THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Bernard MAJOIE

1ère THÈSE.— " Tératogènes et ontogénèse. Action de l'actinomycine D sur le développement nerveux du jeune lapin : données neurophysiologiques biochimiques et neuropharmacologiques. "

2ème THÈSE.— Propositions données par la Faculté. " Le rôle de la N- acétylation sur les activités neuropharmacologiques. "

Soutenues le 16 juin 1966 devant la Commission d'examen.

MM. MONNIER *Président*

SOULAIRAC

LAGET *Examinateurs*

VELLUZ

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Bernard MAJOIE

1ere **THÈSE.**— " Tératogènes et ontogénèse. Action de l'actinomycine D sur le développement nerveux du jeune lapin : données neurophysiologiques biochimiques et neuropharmacologiques. "

2eme **THÈSE.**— Propositions données par la Faculté. " Le rôle de la N- acétylation sur les activités neuropharmacologiques. "

Soutenues le 16 juin 1966 devant la Commission d'examen.

MM. MONNIER — *Président*

SOULAIRAC
LAGET
VELLUZ — *Examinateurs*

A France,

pour toute la bonne humeur dont elle a su émailler cette période de travail, avec tout mon amour.

A mes Parents

A mes Beaux-Parents

en gage de ma tendre affection.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur A.-M. MONNIER
Membre de l'Académie de Médecine
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre jury.

Nous avons eu le privilège de suivre son enseignement universitaire et d'être accueilli avec bienveillance dans son laboratoire.

Qu'il agrée l'expression de notre très profond respect.

A Monsieur le Professeur Paul LAGET
Professeur à la Faculté des Sciences de Reims

qui nous a accueilli avec bienveillance dans son unité de recherche ; et, nous faisant bénéficier de ses méthodes et de son expérience, nous a inspiré ce travail, nous a suivi dans sa réalisation et nous a témoigné une infinie patience, un enthousiasme dynamique et de stimulants encouragements ;

qu'il nous soit permis de lui dire notre respectueuse admiration et notre profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur A. SOULAIRAC
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

Nous le remercions de l'intérêt et de l'attention qu'il a portés à notre travail en acceptant de le juger.

En hommage à Monsieur le Professeur Léon VELLUZ
Membre de l'Institut

dont l'aide morale et les conseils avisés nous furent précieux et qui, en acceptant de juger ce travail, nous apporte une fois de plus son témoignage de bienveillant intérêt.

Qu'il sache ici, avec l'expression de notre respectueuse reconnaissance, que sa vie, pleine d'une passion communicative, nous sera un exemple.

En hommage à Monsieur le Professeur René HAZARD

A Monsieur le Professeur Henri RENAULT

qui a su éveiller en moi le désir de me consacrer à un travail de recherche scientifique.

A Monsieur le Professeur Paul LECHAT

Qui a bien voulu mettre à notre disposition toutes les ressources de son laboratoire, et qui, nous guidant dans nos premiers contacts avec la recherche expérimentale sur l'animal, n'a cessé de s'intéresser à nos travaux.

Qu'il en soit ici remercié.

A Monsieur le Professeur André MANGEOT

Qui, nous ouvrant les portes de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux de Paris, nous a permis, non seulement de bénéficier des possibilités matérielles et techniques de son établissement, mais dont l'expérience nous sera des plus précieuses pour la carrière future que nous envisageons.

Qu'il sache combien nous le remercions de son enseignement plein d'efficacité.

Nous sommes heureux de pouvoir exprimer nos remerciements

A Monsieur Pierre PIGNARD

Pharmacien-Chef des Hôpitaux de Paris

Qui, avec sa bienveillance toute empreinte d'amitié, nous a si souvent éclairé de ses conseils.

A Yves GIUDICELLI

mon ami,

Pour son étroite collaboration dans la partie expérimentale des dosages biochimiques.

Nous avons bénéficié, au travers du Laboratoire de biochimie de l'Hôpital de BICÊTRE, d'une aide efficace dans nos travaux de chromatographie par les connaissances de

Monsieur Alain LEMONNIER

Pharmacien-Chef des Hôpitaux de Paris

et de Mademoiselle CHARPENTIER

Chef de Laboratoire

Qu'ils trouvent ici l'assurance de notre gratitude.

Nous devons aux Laboratoires FOURNIER DIJON l'appui matériel efficace qui nous a permis de nous consacrer entièrement à notre travail expérimental.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 5

CHOIX D'UNE SUBSTANCE TERATOGENE : L'ACTINOMYCINE D 7

CHOIX D'UN ANIMAL : LE LAPIN 11

DONNEES ACTUELLES SUR L'ONTOGENESE DU LAPIN 12

AVANT-PROPOS 12

MORPHOGENESE 13

Période embryonnaire 13

Période foetale 14

Période néonatale 15

ASPECT BIOCHIMIQUE 18

Généralités 18

Système nerveux central 19

Accumulation des constituants 19

Etude de quelques systèmes enzymatiques 22

Conclusion 28

ASPECT PHARMACOLOGIQUE 29

Conclusion 30

ASPECT NEUROPHYSIOLOGIQUE 31

Activités spontanées 32

Activités évoquées 33

Activités paroxystiques 36

Conclusion 39

ASPECT ENDOCRINOLOGIQUE 40

Conclusion 41

ASPECT COMPORTEMENTAL 42

CONCLUSIONS 43

TECHNIQUES ET MATERIEL 44

SUJETS D'EXPERIENCE 44

Elevage 44

Préparation en vue de l'expérimentation électrophysiologique .. 44

— montage aigu 44

— montage chronique 45

TECHNIQUE D'EMPLOI DE L'ACTINOMYCINE 48

MATERIEL 49

APPAREILLAGE ELECTROPHYSIOLOGIQUE 49

RESULTATS EXPERIMENTAUX 50

INTRODUCTION 50

RESULTATS DE L'EXAMEN MORPHOLOGIQUE 51

RESULTATS NEUROPHYSIOLOGIQUES 64

Mode d'interprétation des E.Co.G. 64

Mode d'interprétation des potentiels évoqués 75
Action de l'actinomycine 80
Discussion 111
RESULTATS BIOCHIMIQUES 114
DETERMINATION DES DERIVES INDOLIQUES URINAIRES 116
Technique 116
Variations observées au cours de l'âge chez les animaux témoins 117
Conclusion 117
Variations observées chez les animaux « actinomycinés » 118
Conclusion 121
DETERMINATION DES ACTIVITES PLASMATIQUES ET CEREBRALES DE TRANSAMINATION 124
Historique 124
Matériel et méthodes 124
Variations observées chez les animaux témoins 125
Conclusion 128
Variations observées chez les « actinomycinés » 128
Conclusion 130
RESULTATS NEUROPHARMACOLOGIQUES 132
Technique 132
Mode d'interprétation 133
Résultats obtenus chez les Lapereaux témoins 133
Résultats obtenus chez les animaux « actinomycinés » 148
Conclusion 158
DISCUSSION CONCLUSION 160
RESUME en langue anglaise 168
BIBLIOGRAPHIE 169

INTRODUCTION

Le début des années 60 a été marqué par le drame du Thalidomide. La constatation des effets tératogènes de ce médicament a entraîné un grand nombre de recherches dans le domaine de l'ontogénèse, et les substances qui entravent le développement foetal se sont révélées être d'excellents moyens d'investigation.

Les expérimentations pharmacologiques portant sur l'étude systématique des effets tératogènes ont permis de définir, pour un certain nombre de corps, des doses telles qu'elles entraînent l'apparition d'animaux malformés dans des proportions significatives. A la lumière de ces travaux, il s'est avéré que la tératogénèse, contrairement à la toxicité, ne présentait aucune relation proportionnelle action-dose, mais que parfois au contraire, l'administration de certains agents tératogènes à des doses faibles entraînait des malformations qui n'apparaissent pas à des doses supérieures.

Si l'emploi de doses supérieures ou inférieures au seuil d'action tératogène permet un développement apparemment normal de l'embryon, il importe de savoir dans quelle mesure cette apparence correspond à la réalité.

C'est pourquoi nous avons entrepris de rechercher, par des méthodes sensibles, les répercussions éventuelles de l'administration d'un agent tératogène sur l'activité fonctionnelle du système nerveux central, chez des animaux ne présentant pas de malformations apparentes. Dans cet esprit, nous avons étudié l'ontogénèse de tels animaux sous les trois aspects neurophysiologique, biochimique et pharmacologique.

CHOIX D'UNE SUBSTANCE TERATOGÈNE : L'ACTINOMYCINE D

Le but proposé de notre travail étant l'analyse du retentissement sur le fonctionnement nerveux d'une action présumée **sub-tératogène**, il nous importait de choisir une substance dont le point d'impact pût être le système nerveux central.

Parmi les très nombreux corps qui induisent des malformations notre choix s'est fixé sur l'**actinomycine D** pour les raisons suivantes :

un nombre important de travaux poursuivis à l'échelle cellulaire a permis de définir les modalités d'action de l'actinomycine D sur le processus de synthèse protéique ;

l'addition d'actinomycine D aux milieux de culture d'œufs fécondés d'organismes inférieurs a prouvé que cette substance était susceptible d'entraver la différenciation des structures nerveuses embryonnaires ;

les expériences de Denis sur l'œuf d'amphibien, de Pierro sur l'embryon de Poulet, et, essentiellement, de Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot sur le Rat et le Lapin ont montré la possibilité d'obtenir cette action chez les animaux supérieurs ;

ces auteurs ont défini, pour chacune des espèces animales utilisées, les stades du développement qui correspondent aux phases critiques de sensibilité embryonnaire à l'actinomycine D.

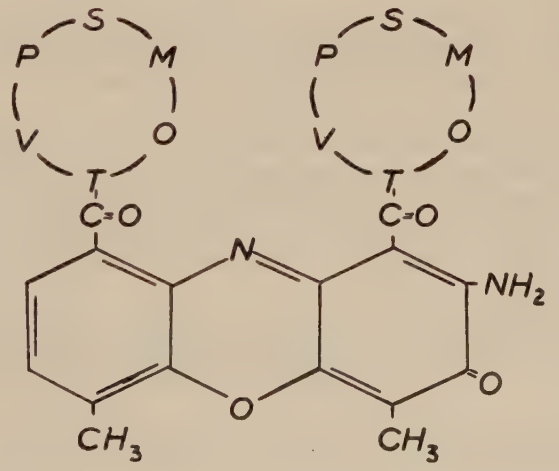
En plus des revues relativement récentes de Reich (1963) et de Samuels (1964), nous avons trouvé une littérature extrêmement abondante sur les différents points qui ont motivé notre choix ; nous nous proposons d'en exposer l'essentiel afin de préciser successivement les caractéristiques structurales, le mode d'action, puis les effets de l'actinomycine sur le développement.

Structure.

Isolé en 1940 de cultures de streptomyces du genre actinomyces par Waksman et Woodruff, le groupe des actinomycines a été défini chimiquement par Bullock et Johnson (1957).

Les actinomycines sont les dipeptides 1-8 de l'acide 2 amino-4,5-diméthyl-phénoxazine-3-one-1,8-carboxylique. Les séquences des 5 amino-acides qui constituent les peptides sont caractéristiques de chaque actinomycine. L'actinonomycine D possède la structure suivante :

T : thréonine (l)
V : valine (d)
P : proline (l)
S : sarcosine
M : N-méthylvaline (l)



D'abord retenue pour son pouvoir bactériostatique, l'actinomycine s'est révélée un puissant agent cytotoxique, et l'on a cherché à évaluer son intérêt thérapeutique dans le traitement des tumeurs. Dans le même temps, un nombre important de travaux a été consacré à l'étude de son mode d'action.

Action de l'actinomycine au niveau cellulaire.

Depuis les travaux de Slotnick (1957-1958) sur Bacillus Subtilis, on sait que l'actinomycine est un inhibiteur de la synthèse protéique et qu'elle agit en bloquant la synthèse des acides ribo-nucléiques (ARN) messagers dirigée par les acides désoxyribonucléiques (ADN). Cette synthèse est inhibée par suite d'une liaison du groupement chromophore (amino 2) avec les restes guanine et désoxyguanine des ADN.Le complexe actinomycine - ADN ainsi formé, entrave l'action des ARN-polymérases (1) (nucléoside-triphosphate : ARN nucléotidyl-transférase 2.7.7.6.).

L'observation ultrastructurale des cellules soumises à l'action de l'actinomycine révèle une atteinte particulière de l'ensemble des formations nucléaires et une altération moins marquée des constituants cytoplasmiques. La perte des ARN se matérialise par une diminution de la basophilie nucléolaire et cytoplasmique (Reich [1963] - Ficq [1964]), le nucléole se rétrécit et perd son opacité ; les chromosomes eux-mêmes sont altérés (Laufer et Coll. [1964]) et l'examen en microscopie électronique a révélé l'apparition de bâtonnets de structure particulière, groupés en zones dans le suc nucléaire et qui seraient d'origine chromosomiale (Jones et Elsdale [1964]).

Le mécanisme inhibiteur de l'actinomycine est général ; il a été confirmé par les études successives de nombreuses équipes qui ont étudié ses effets sur différents types de cellules, sur les virus, ainsi que sur les bactériophages (Reich et Coll. [1961] - Wheeler et Bennet [1962] - Goldberg et Rabinowitz [1962] - Holzer et Coll. [1963] - Uhr [1965] - Cavaleri et Coll. [1964]).

Comme nous allons le voir, il s'est avéré que ce mécanisme était toujours en cause dans l'effet inhibiteur de l'actinomycine sur le développement et la différenciation tissulaires.

Action de l'actinomycine sur la croissance et la différenciation embryonnaires.

L'effet cytotoxique de l'actinomycine s'exerce particulièrement sur les tissus à multiplication rapide. C'est ce qui a justifié son emploi dans le traitement de certaines tumeurs malignes, c'est aussi ce qui explique son pouvoir inhibiteur sur les tissus embryonnaires.

En illustration du pouvoir anti-mitotique, nous citerons les travaux de Bal et Gross (1963) sur les méristèmes de racines d'Allium : l'actinomycine bloque les mitoses au stade de l'interphase et empêche la différenciation du tissu pré-vasculaire. De même Philips et Coll. (1960) ont montré chez l'Homme que l'action diarrhéique des doses thérapeutiques était due partiellement à l'exfoliation du tube digestif, consécutive à l'arrêt des divisions cellulaires qui permettent le renouvellement des parois intestinales.

Cependant, comme l'a montré Wessels (1964), la sensibilité des tissus varie dans le temps, et l'action de l'actinomycine sur la différenciation de tissus explantés maintenus en culture, s'atténue au fur et à mesure que la différenciation s'accomplit.

Le développement de l'œuf d'Oursin fécondé est arrêté au stade blastula par l'addition de faibles quantités (30 à 40 µg) d'actinomycine, la différenciation des structures ectodermiques et mésodermiques qui se déroule au cours de la gastrulation n'a pas lieu, et l'embryon se transforme en masses multicellulaires inertes (Lallier [1963], Gross et Cousineau [1963-1964] - Ficq [1964]).

Les œufs d'amphibiens ont fait l'objet des mêmes expériences, et l'on doit à Brachet et Denis un important travail concernant les aspects morphologiques et biochimiques de l'inhibi-

(1) Les enzymes cités dans le texte suivant leur dénomination commune sont systématiquement référencés à la nomenclature internationale (Elsevier [1964]).

tion du développement embryonnaire par l'actinomycine. Avec des doses croissantes d'inhibiteur administrées pendant la gastrulation, l'induction neurale peut être partiellement puis totalement arrêtée, dans un gradient céphalo-caudal et dorso-ventral. Le chordo-mésoblaste et l'ectoblaste perdent respectivement leur pouvoir inducteur et leur compétence de différenciation ; ultérieurement, les cellules nerveuses déjà différenciées subissent une dégénération pycnotique, consécutive à l'appauvrissement en ARN, tandis que l'ectoderme devient atypique. L'étude historadiographique montre une inhibition puissante de l'incorporation des bases nucléiques dans les chaînes d'ARN, particulièrement marquée dans les tissus dorsaux où la différenciation est la plus active. La synthèse protéique est elle-même affectée avec un certain retard, elle est en effet maintenue sous l'impulsion des ARN messagers présents avant l'addition d'actinomycine au milieu de culture (Brachet et Denis [1963] - Denis [1963-1964]).

L'action de l'Actinomycine se limite strictement dans le temps à la période de différenciation tissulaire : en effet, son administration pendant la gastrulation et la neurulation de l'œuf d'amphibien entraîne des microcéphalies ou même l'absence totale du SNC, alors que son administration aux stades ultérieurs est sans effet sur ces structures (Flickinger [1963]).

L'action tératogène de l'actinomycine sur l'embryon de Poulet subit les mêmes variations d'intensité suivant le stade évolutif auquel est pratiquée l'injection. La fréquence d'obtention d'animaux « sans croupion » ou « sans tronc » diminue puis s'annule lorsque les injections sont pratiquées après 24, 48 ou 72 heures d'incubation (Pierro [1961-1962], Klein et Pierro [1963]).

Les premiers travaux consacrés à l'étude tératogène de l'actinomycine sont l'œuvre de Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot. Malgré leur antériorité sur les différents auteurs que nous venons de citer, nous avons préféré développer ici l'exposé de leurs résultats parce qu'ils ont porté sur deux espèces de rongeurs et s'apparentent par conséquent directement à notre propre travail.

Chez la Rate gestante (1958-1959 a et b), l'injection intra-péritonéale de 10 µg d'actinomycine D aux 7e, 8e et 9e jours provoque 30 % d'avortements et 28 % de malformations apparentes. Ces malformations sont polymorphes et atteignent essentiellement le SNC (anencéphalies, exencéphalies, encéphalocèles), les organes des sens (microphtalmies et anophtalmies), le squelette (fente palatine, torsion du squelette axial, malpositions des membres), les viscères (coelosomes) et, plus rarement, le système cardiovasculaire.

Lorsque les injections sont pratiquées plus tôt (entre le 3e et le 6e jour de gestation), le pourcentage de malformations est nul et l'avortement survient dans 40 à 50 % des cas. De même, après le 10e jour, seuls subsistent les avortements.

Chez le Lapin (1960 a) l'administration du 6e au 8e jour, ou du 7e au 9e jour, provoque un tiers d'avortements avec résorption placentaire, les deux tiers restants des fœtus présentent une apparence normale. Pour des doses de 150 à 200 µg, lorsque les injections sont pratiquées du 8e au 10e jour, 45 % des embryons meurent, 55 % présentent des malformations du même type que celles décrites chez le Rat.

L'importance des avortements et des résorptions fœtales observés fait intervenir la notion d'une inhibition du développement de l'œuf telle que nous l'avons décrite antérieurement dans d'autres espèces animales, elle se superpose à l'action tératogène proprement dite.

L'inhibition de l'ovulation a été étudiée in vivo chez la Lapine, elle est réalisée à 100 % lorsque l'actinomycine est injectée dans les follicules 1 à 3 heures après l'accouplement, elle s'annule progressivement entre la 3e et la 6e heure, et elle est rigoureusement proportionnelle à la dose administrée. (Pool et Lipner [1964].)

Les malformations induites par l'actinomycine sont explicables sur la base de son mécanisme d'action. Nous avons vu de quelle manière la différenciation était influencée par cet inhibiteur de synthèse nucléique. Les aberrations morphologiques obtenues dans différents organes sont l'œuvre de l'actinomycine au moment précis de leur différenciation.

Tuchmann - Duplessis et Mercier - Parot ont montré qu'il existait une gradation dans la gravité des malformations observées dans une même portée. Ainsi, l'importance de l'action

tératogène est-elle liée d'une part, à la dose d'actinomycine administrée, mais également à la susceptibilité individuelle de l'embryon.

En conclusion de cette analyse il nous a semblé logique de penser que les animaux qui ne présentent pas de malformation apparente, pourraient vivre malgré l'existence de troubles d'ordre métabolique ou fonctionnel eux-mêmes induits par l'actinomycine.

Dans la mesure où la différenciation se concrétise par l'apparition d'enzymes spécifiques des fonctions du tissu qui s'individualise, comme le rappelle Grobstein (1964), la croissance d'activités enzymatiques, peut être considérée comme un indice de maturation.

Il se trouve que l'inhibition de la synthèse protéique, contre-coup de l'inhibition de la synthèse des ARN-messagers par l'actinomycine, s'exerce également sur la formation des chaînes protéiques enzymatiques, et peut entraîner un déficit. Ainsi, la galactoside-galactohydrolase (galactosidase 3-2-1-22) d'Eschérichia Coli (Nisman et Coll. [1963]), les enzymes du cycle de Krebs de reins de Rat (Poro - Cima [1955]), la phosphorylation de la pyridoxine par le foie de Rat (Mascitelli - Coriandoli [1959]), l'induction de prothrombine par la vitamine K (Olson [1964]), sont-ils déprimés par l'actinomycine.

L'inhibition de la synthèse d'enzymes a été également mise en évidence dans les organes d'animaux en cours de développement, en particulier l'αα'-glucoside l-glucohydrolase (tréhalase 3-2-1-28) des glandes salivaires de larve de Drosophile (Llaufer et Coll. [1964]), ou les phosphatases (phosphohydrolases des mono-ester orthophosphoriques-3-1-3-2) rénales et intestinales du Rat entre le 13e et le 20e jour de la vie post-natale. (Moog [1964].)

Dans cette action, l'actinomycine s'oppose à l'induction hormonale des synthèses d'enzymes (Weber et Coll. [1963-1964]), et c'est vraisemblablement là le principe de l'inhibition des actions d'hormones les plus diverses comme la parathormone (Eisenstein [1964] - Milhaud [1964] - Rassmussen [1964]), l'œstradiol (Talwar et Segal [1963]), la thyroxine (Tata [1963]), l'insuline (Eboué Bonis [1963]) ...

Toutefois, des travaux récents ont montré que dans quelques cas l'activité enzymatique de certains organes s'accroît sous l'influence de l'actinomycine seule ou associée à une hormone. Ainsi, l'alanine et la tyrosine-transaminase (l-alanine : 2-oxoglutarate aminotransférase-2.6.1.2. et l-tyrosine : 2 oxoglutarate aminotransférase-2.6.1.5.), la sérine-déhydrase (sérine hydro-lyase-4.2.1.13), la tryptophane-pyrrolase (l-tryptophane : oxygène oxydo-réductase-1.13.1.12) de foie de Rat intact ou adrénalectomisé, peuvent augmenter de 3 à 6 fois (Rosen et Coll. [1964]) ; l'activité phosphatasique duodénale chez la Souris (Moog [1964]), est susceptible de la même augmentation. L'actinomycine renforce l'augmentation d'activité de la tryptophane pyrrolase induite par l'hydrocortisone chez le Rat adrénalectomisé (Garen et Coll [1964]) ; ou, dans les mêmes conditions, la synthèse protéique au niveau des polyribosomes des cellules hépatiques (Breuer et Davis [1964]).

Ces différents auteurs trouvent une explication de cette action paradoxale dans la possibilité d'une inhibition par l'actinomycine de la synthèse d'une protéine qui complexerait les enzymes néoformés.

Conclusion

Nous venons de voir que l'action cytotoxique de l'actinomycine est susceptible de se manifester sur les organismes en voie de différenciation sous de multiples aspects.

Les malformations morphologiques visibles sont les conséquences de l'inhibition d'un mécanisme de réactions synthétiques qui confèrent la spécialisation aux cellules qui en sont le siège. A un moindre degré, l'inhibition peut frapper isolément quelques protéines et entraîner des désordres plus discrets.

Il convient donc, en matière de tératogénèse, d'explorer des domaines aussi différents que l'anatomie, l'activité fonctionnelle et la biochimie pour posséder une vision complète de l'étendue de son action.

CHOIX D'UN ANIMAL : LE LAPIN

Il nous importait de posséder sur l'animal de notre choix le plus grand nombre possible de connaissances sur son développement post-natal dans les domaines neurophysiologique, biochimique et pharmacodynamique que nous nous proposions d'explorer, après avoir tenté d'en modifier les caractères par l'administration d'actinomycine.

Les rongeurs tiennent une place prépondérante parmi les animaux d'expérimentation courante dans nos laboratoires et chacun d'eux pouvait répondre à cette nécessité.

Nous avons choisi le Lapin pour plusieurs raisons :

Les données électrophysiologiques sur l'ontogénèse du Lapin qui ont servi de référence à la partie principale de ce travail sont déjà nombreuses et relativement précises.

La Lapine ayant une ovulation provoquée, la possibilité d'obtenir assez facilement des portées nombreuses (8 Lapereaux en moyenne) à toute époque de l'année, étaient autant de facteurs favorables.

Enfin, comme nous le verrons dans le chapitre suivant, le Lapin naît relativement immature et parvient à l'état adulte par étapes définies, caractérisées par l'apparition successive et dans un ordre partiellement établi, de constantes physiologiques propres à chaque âge.

Le principe de cette évolution devait nous permettre d'établir des différences éventuelles dans sa chronologie et sa morphologie entre deux groupes : les Lapereaux normaux et les Lapereaux issus de mères traitées pendant leur gestation.

DONNÉES ACTUELLES SUR L'ONTOGENESE DU LAPIN

AVANT-PROPOS

Nous avons essayé dans ce chapitre de décrire aussi complètement que possible le tableau général de l'ontogénèse chez le Lapin. Dans de nombreux cas des lacunes dans l'expérimentation consacrée à cet animal, nous ont amené à énoncer les résultats obtenus dans d'autres espèces en tentant d'effectuer un rapprochement. Il est certain qu'un tel rapprochement ne peut s'effectuer que sous réserve formelle. Dans l'ordre même des rongeurs, les diverses espèces se comportent très différemment sur le plan de l'ontogénèse, plus particulièrement sur celui de la neuro-ontogénèse.

Si nous en restons au seul groupe des rongeurs, nous constatons tout d'abord d'importantes différences dans la durée de la gestation : 21 jours chez le Rat, 31 jours chez le Lapin, 60 jours environ chez le Cobaye. Si l'on compare les possibilités sensori-motrices d'un Lapin et d'un Cobaye nouveau-né, on s'aperçoit que, tandis que le Lapereau, sourd, aveugle, se déplace par des mouvements de reptation gauches et mal coordonnés, le jeune Cobaye est déjà capable de se dresser sur ses pattes et perçoit, dès la naissance, les stimuli auditifs et visuels.

Aux contrastes que fait ressortir l'observation grossière correspondent des degrés de maturité anatomique, électrophysiologique et biochimique totalement différents.

Compte tenu de ces remarques, l'extrapolation des données obtenues d'un ordre à un autre, pis encore d'une classe à une autre du règle animal restera systématiquement dans le domaine fragile de l'hypothèse avant qu'une expérimentation comparée ne l'ait justifiée.

MORPHOGENÈSE

Nous avons vu que l'actinomycine possédait un pouvoir inhibiteur puissant vis-à-vis des tissus en cours de différenciation ; les manifestations de cet effet sont liées intimement à un facteur de perméabilité. Ainsi il convient de connaître les possibilités de pénétration de cette substance au niveau de l'œuf et de choisir le moment de son administration en fonction du stade d'évolution de l'embryon. C'est pourquoi nous avons rassemblé dans le chapitre suivant, d'une part les connaissances actuelles, chez le Lapin, sur la structure placentaire qui conditionne la susceptibilité de l'embryon aux produits administrés à la mère, d'autre part la séquence des différentes étapes de formation de l'embryon, en définissant plus précisément les phases critiques du développement du système nerveux central pendant lesquelles il présente une sensibilité particulière aux agents tératogènes.

PERIODE EMBRYONNAIRE

Comme nous l'avons dit plus haut, la gestation chez le Lapin dure 31 à 32 jours. Si l'on appelle temps 0 le moment de la fécondation, la première division de l'œuf a lieu 24 heures après, la migration dans l'utérus, au stade blastocœle entre 72 et 96 heures, l'implantation vers le 6^{e} jour (W. S. Spector [1956]).

La blastulation, qui commence au 3^{e} jour est le début d'une phase de croissance extrêmement rapide, en effet le volume du blastocyste, évalué en mm^{3} passe de 0,002 au 3^{e} jour à 2.500 mm^{3} au 10^{e} jour (J.-C. Daniel [1964]).

— placentation

Au moment de l'implantation, le trophoblaste qui enveloppe le blastocyste, se double d'une lame choriale mésenchymateuse dont la vascularisation entraîne la formation des villosités choriales, siège des échanges vasculaires fœto-maternels.

Comme chez tous les Euthériens, la placentation est du type chorio-allantoïque toutefois, l'existence d'un sac vitellin précède la placentation allantoïque qui s'établit lorsque le splanchnopleure du sac vitellin s'appuie à l'endomètre (fig. 1). La barrière fœto-placentaire évolue pendant la gestation, d'abord du type hémochorial strict (le chorion est directement baigné dans le sang maternel après destruction locale de l'endomètre), il s'établit partiellement des échanges hémo-endothéliaux par destruction de place en place du trophoderme chorionique, seules les cloisons capillaires fœtales séparent alors les deux circulations (E. C. Amoroso [1961]).

La période de l'embryogénèse qui s'étend du 3^{e} au 13^{e} jour de la gestation est la plus favorable à l'action des agents tératogènes : en effet, durant la multiplication cellulaire intense du blastocyste, l'embryon est soumis à une nutrition du type histotrophique et la sélection des métabolites admis à son contact ne s'opère que pendant la seconde phase, homéotrophique ; or celle-ci ne devient effective que vers le 12^{e} jour, lorsque les caractéristiques de la placentation chorio-allantoïque sont parfaitement développées (C. E. Adams [1959]).

— neurogenèse

L'embryon lui-même se trouve au cours de cette période dans la phase de sensibilité maximale aux inhibiteurs de différenciation cellulaire : dès le 5^{e} jour, la gastrulation entraîne dans ses migrations le rapprochement de groupes de cellules qui vont induire mutuellement leur développement et participer à l'édification des feuillets primordiaux. Au 11^{e} jour, la différenciation du tissu nerveux s'achève, l'ensemble des ébauches du système nerveux central est en place ; le stade fœtal succède au stade embryonnaire.

Deux stades embryonnaires correspondent à la période critique que nous venons de définir :

— le stade gastrula, pendant lequel l'ectoderme se différencie en plaque neurale et en crête neurale, ébauches primitives du système nerveux central et périphérique ;

— la neurulation, qui s'étent du 7^{e} au 11^{e} jour, pendant laquelle l'embryon se segmente en somites, tandis que le tube neural, formé par le repli de la plaque neurale, se ferme progressivement et subit les plicatures qui préfigurent, au niveau des quatre premiers somites, les trois, puis les cinq ventricules du cerveau primitif.

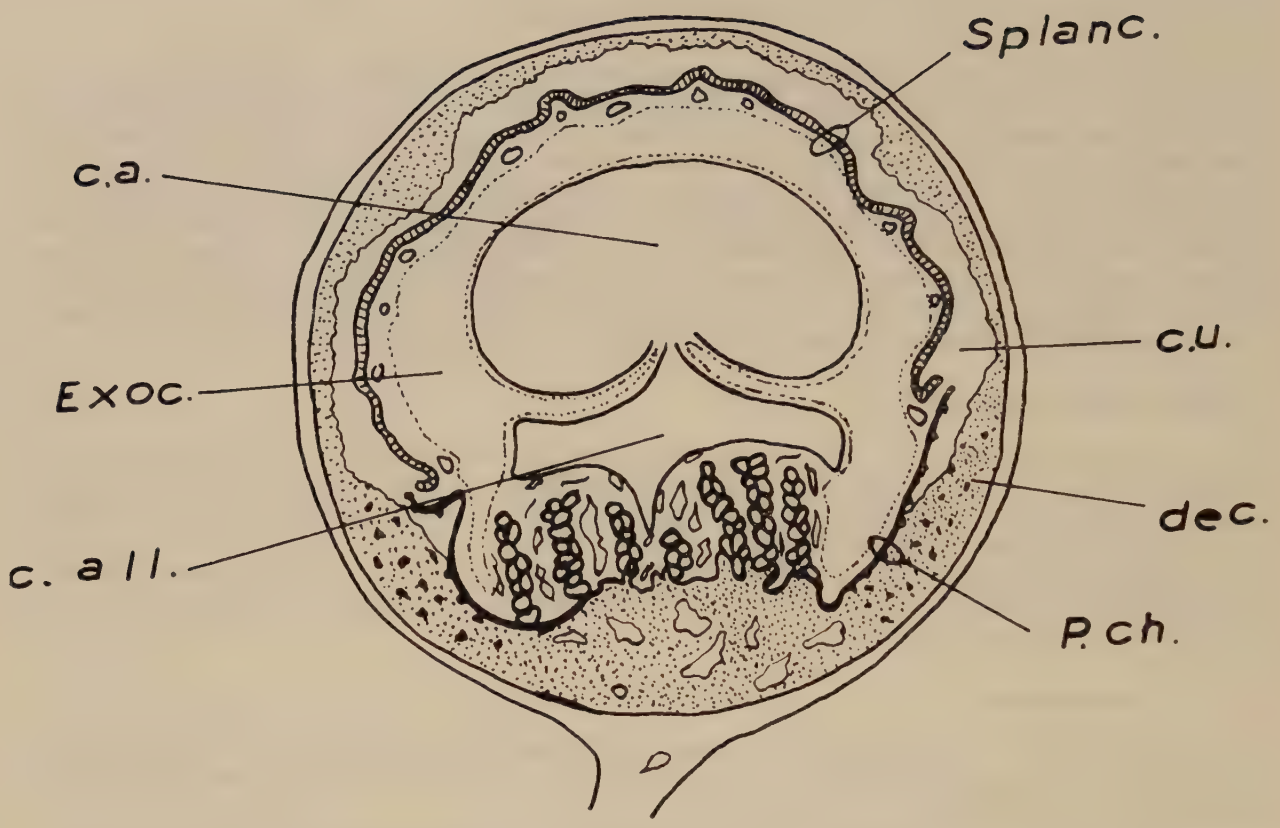


FIG. 1. — Membranes fœtales et placenta du Lapin. Schéma montrant le placenta chorionique marginal du disque placentaire coexistant avec le sac vitellin.

Légende. — c.a. : cavité amniotique — Exoc. : exocœlome — c.all. : cavité allantoïque — Splanc. : splanchnopleure du sac vitellin — c.u. : cavité utérine dec. : decidua et cellules trophoblastiques géantes — P. ch. : placenta chorionique.

D'après Wimsatt (1962).

A l'échelon cellulaire, les cellules nerveuses primitives, ou neuroblastes, se différencient pour une part, en neurones. A cette différenciation correspondent les modifications suivantes : apparition progressive des neurofibrilles au sein du cytoplasme, extension de prolongements cytoplasmiques préfigurant dendrites et axones, tandis que le noyau s'agrandit, se vacuolise, et perd progressivement son pouvoir mitotique. Ce phénomène général, qui s'amorce à la gastrulation, s'étend sur la durée totale de la maturation, au-delà de la gestation.

PERIODE FŒTALE

Malgré l'importance des modifications architecturales et histologiques qui ont lieu chez le fœtus, nous ne donnerons pas de développement à ce chapitre. L'étude détaillée de la fœtalisation n'a pas sa place ici, puisque nous nous sommes proposé, d'une part d'expliquer les faits qui nous ont guidé dans le choix des dates d'injections d'actinomycine pendant la gestation ; d'autre part, de définir les caractéristiques structurales du système nerveux, à titre de témoin de comparaison avec nos sujets d'expérience examinés après la naissance.

Nous rappellerons simplement que le système nerveux, pendant cette période, est le siège d'une multiplication cellulaire intense, que les différentes structures s'individualisent et que les connexions inter-neuronales s'établissent du fait de l'allongement et de l'arborisation des prolongements cellulaires, grâce également au développement des processus biochimiques de synthèse et de dégradation des effecteurs de la transmission nerveuse.

PERIODE NEONATALE

A la naissance, le système nerveux du Lapin n'est pas encore parvenu à la fin de sa maturation.

Au niveau du cortex cérébral, les différentes couches cellulaires présentent des différences importantes de maturité, particulièrement dans la zone visuelle occipitale. Si les couches profondes (V - VI) sont presque comparables à celles de l'adulte, les couches plus superficielles (II - III), ont une densité cellulaire très élevée et les limites entre les couches IV et V d'une part, V et VI de l'autre, sont très imprécises (Hunt et Goldring [1951]).

Ultérieurement, les divisions cellulaires, très intenses pour le tissu névroglique, se poursuivent dans les premiers jours post-partum, la croissance des corps cellulaires, et essentiellement des prolongements cytoplasmiques des neurones s'opèrent à un rythme rapide pendant le premier mois et s'étendent au-delà du troisième mois. L'ensemble contribue à la **diminution de la densité cellulaire** et à l'**épaississement** progressif de la couche corticale, tandis que les migrations cellulaires dans le sens centrifuge conduisent à l'**individualisation des différentes couches** (Himwich [1962]).

Le développement de la névroglie participe pour une part à l'accroissement du volume cérébral et à la diminution simultanée de la densité cellulaire. Les parois des capillaires sanguins sont progressivement séparées de leurs contacts directs avec les neurones par la constitution d'une gaine de névroglie qui les entoure complètement entre la 2e et la 3e semaine (Dempsey [1959]).

Les comptages de cellules après dissociation par agitation mécanique effectués chez le Rat entre 1 et 100 jours reflètent ce parallélisme entre la dispersion des neurones et la multiplication des cellules gliales. Pour 145.000 neurones et 30.000 cellules gliales par mm^3 au 10e jour, ces chiffres deviennent respectivement 90.000 et 65.000 au 100e jour (Brizzee, Vogt et Kharetchko [1964]). Des mesures moins précises pratiquées chez le Lapin montrent que 13 à 15 % du volume cortical, à la naissance, sont occupés par les corps cellulaires, ces proportions tombent à 7,5 % au 5e jour, puis décroissent lentement à 6,7 % à l'âge adulte (Schadé et Baxter [1960]). (Fig. 2.)

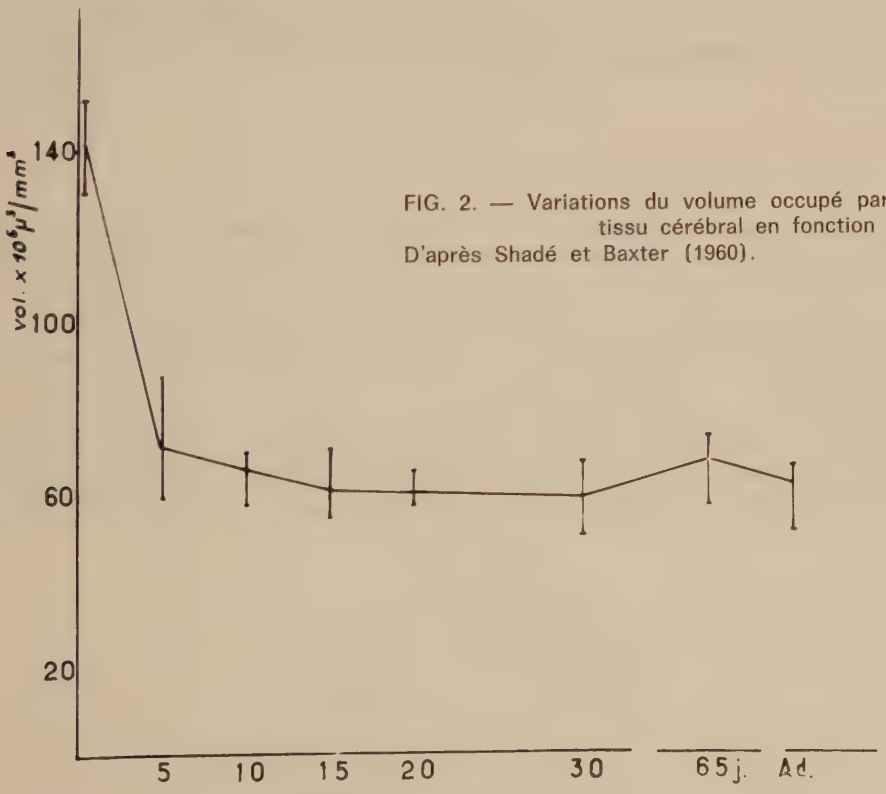


FIG. 2. — Variations du volume occupé par les corps cellulaires dans le tissu cérébral en fonction de l'âge.
D'après Shadé et Baxter (1960).

L'observation microscopique des cellules nerveuses, du cortex cérébral d'animaux nouveau-nés de différentes espèces, révèle la persistance d'éléments dont la différenciation n'est pas achevée. Dans ces cellules, les membranes réticulo-endoplasmiques sont incomplètement développées et les ribosomes ne sont pas inclus dans leur réseau (Purpura [1964]). Essentiellement dans les couches corticales II et IV du jeune Chat, la totalité des neuroblastes ne sont identifiables aux cellules granulaires et stellaires qu'à la fin du 2e mois (Scheibel et Scheibel [1964]).

De même, si l'on admet avec Flexner (1950 et 1959) la possibilité d'une comparaison entre le fœtus du Cobaye au 40e-45e jour de gestation et le Rat nouveau-né de 7 à 10 jours, au sein des neurones, le nucléole devient mature, les corps de Nissl apparaissent, le noyau cesse de croître en volume, dans cette même période.

La constitution des axones subit une transformation capitale lors du début de la **myélinisation** vers le 7e jour après la naissance. Le dépôt de myéline va contribuer sur le plan anatomique à la dispersion des corps cellulaires, puisqu'elle constitue un apport substantiel au volume des neurones, mais en outre son rôle dans les phénomènes de conduction et d'excitabilité apporte un changement profond dans les caractéristiques électro-physiologiques de l'animal.

La **croissance axo-dendritique** représente l'un des événements les plus importants de la neurogénèse au cours de la période post-natale. Dès la naissance, les dendrites apicaux des grandes cellules pyramidales sont bien développés et atteignent la couche moléculaire. Au contraire les dendrites basilaires sont courts ou même absents.

Aucun de ces dendrites ne possède d'épine latérale. Chez le Lapin, le développement dendritique est particulièrement rapide entre le 9e et le 12e jour (Schadé [1959]) ; il se caractérise par l'augmentation du nombre des prolongements et de leur longueur, en même temps que leurs arborisations s'enrichissent. Les épines dendritiques apparaissent vers le 5e jour. Le volume occupé par les prolongements dendritiques s'accroît de 1,2 % à 7 % entre le 5e et le 30e jour (Schadé et Baxter [1960]). (Fig. 3)

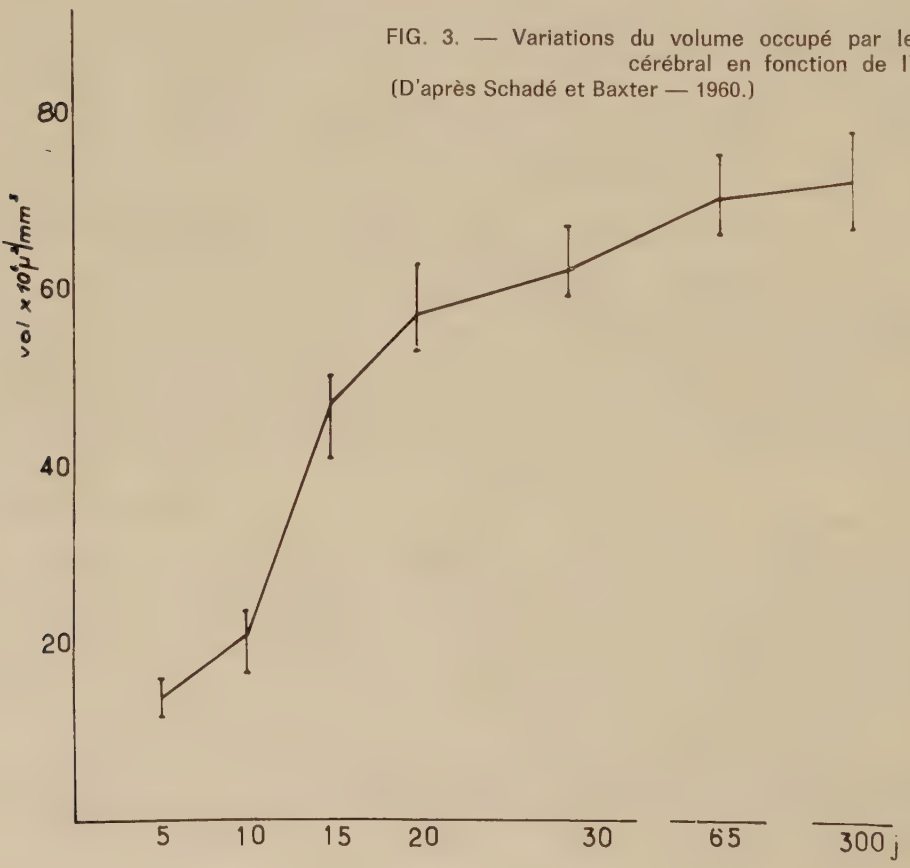


FIG. 3. — Variations du volume occupé par les dendrites dans le tissu cérébral en fonction de l'âge.
(D'après Schadé et Baxter — 1960.)

L'allongement et l'arborisation des dendrites concourent à la multiplication des connexions inter-neuronales entre les différentes couches corticales d'une part, entre le cortex et les centres sous-corticaux d'autre part. (Purpura [1961], Schadé et Coll. [1965].)

Par contre les cellules pyramidales de l'hippocampe chez le Chat possèdent dès la naissance des prolongements dendritiques basilaires et apicaux très développés, les corps cellulaires présentent déjà les caractéristiques de cellules matures (Purpura [1964]).

De même, la formation réticulée de la région ponto-mésencéphalique du Chaton nouveau-né se trouve à un degré avancé dans la maturation de ses composantes structurales (Scheibel et Scheibel [1964]).

Nous verrons ultérieurement que l'activité fonctionnelle de ces structures est elle-même plus évoluée que l'activité corticale. Elles sont phylogénétiquement plus archaïques.

Si les données histologiques précises concernant l'ontogénèse des structures centrales font défaut, nous savons que l'essentiel des relations neuroniques entre les différents centres nerveux de contrôle végétatif existent dès la naissance et assurent, au moins partiellement, les régulations respiratoire et cardio-vasculaire, le réflexe de déglutition, et les mouvements des membres. Par contre, les relations subcortico-corticales ou subcortico-médullaires qui modulent le degré de vigilance et la coordination des contractions musculaires, sont incomplètes.

Ceci est dû, au moins en partie, à l'immaturité du cervelet du jeune Lapin dont le développement, comme chez la plupart des jeunes mammifères (l'Homme compris), est très incomplet à la naissance.

Cette immaturité se caractérise pour une part par une différence dans la constitution tri-laminaire du cortex cérébelleux : à la naissance il existe une couche granulaire superficielle constituée de neurones bi-polaires aux prolongements peu développés. Ce faible développement dendritique est commun à l'ensemble des cellules corticales cérébelleuses, les cellules de Purkinje comprises, et ce n'est que vers la fin du 2e mois que la distinction des cellules stellaires, en pannier, ou granulaires devient possible.

Deux phénomènes concourent à l'établissement progressif de la structure adulte : la migration des corps cellulaires de la couche granulaire externe vers l'intérieur, et le développement des arborisations dendritiques. La croissance des prolongements cellulaires permet la connexion des complexes synaptiques, et en s'orientant particulièrement vers la surface, elle contribue à la constitution de la couche plexiforme (Purpura [1964] - Scheibel et Scheibel [1964]).

En conclusion, nous pouvons dire que la différenciation et le développement cellulaires du tissu nerveux sont « programmés » différemment suivant les populations de neurones. Nous avons vu que le processus commence dès les premiers jours de la gestation pour s'échelonner jusqu'à la fin des premiers mois de la vie extra-utérine.

En conséquence, nous pouvons nous attendre à la démonstration d'une succession de phénomènes fonctionnels en rapport avec la maturité relative des structures dont ils sont l'émanation.

De même, pouvons-nous penser que les atteintes à la différenciation du système nerveux résultant de l'administration d'actinomycine au stade précoce du développement embryonnaire pourront se manifester par des troubles fonctionnels apparaissant plus ou moins tôt suivant la date théorique de venue à maturation des structures intéressées.

ASPECT BIOCHIMIQUE

GENERALITES

Ce chapitre a pris une importance considérable depuis les premiers travaux de L. B. Mendel (1908). Il est en effet séduisant de rechercher par des méthodes biochimiques les modifications métaboliques qui accompagnent les phénomènes de différenciation et de maturation survenant au cours du développement.

En premier lieu, un certain nombre de recherches ont montré que les concentrations des constituants cellulaires variaient au cours de l'âge.

Ces variations ne sont que le reflet de l'évolution de l'équipement enzymatique de la cellule, et grâce au développement de l'enzymologie, un nombre considérable de données est venu étayer les premières connaissances acquises.

D'importantes revues publiées par Driscoll et Hsia (1958), Ritcher (1961), Kretchmer et Coll. (1963), Hermann et Tootle (1964) permettent de dresser un tableau d'ensemble sur l'évolution des activités enzymatiques chez le jeune animal.

Schématiquement, l'activité d'un enzyme donné évolue différemment suivant qu'il est impliqué dans **la croissance, l'activité fonctionnelle** ou **la maturation tissulaire** (Richter [1961]) :

— s'il participe à la croissance tissulaire, son activité sera maxima au début du développement, puis tendra à décroître avec l'âge ;

— s'il est spécifique de l'activité fonctionnelle d'un organe, ce maximum coïncidera dans le temps avec la maturité fonctionnelle de l'organe intéressé ;

— si son activité est caractéristique de l'animal mature, elle s'élèvera progressivement jusqu'à l'âge adulte. (Fig. 4.)

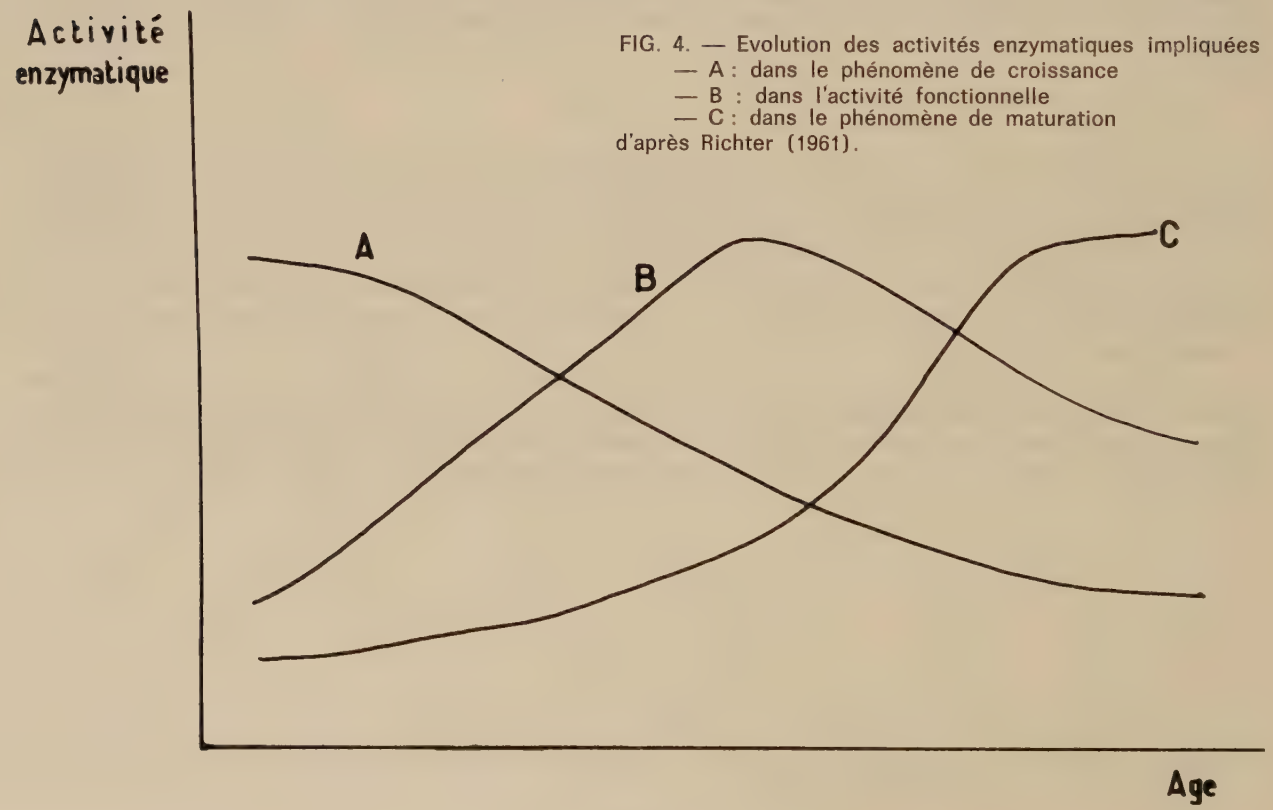


FIG. 4. — Evolution des activités enzymatiques impliquées
— A : dans le phénomène de croissance
— B : dans l'activité fonctionnelle
— C : dans le phénomène de maturation
d'après Richter (1961).

Un certain nombre de facteurs peuvent être responsables des variations d'activité enzymatique observées au cours du développement :

1. — **Le phénomène d'induction :** l'apparition d'un nouveau métabolite entraîne la synthèse des enzymes nécessaires à son transport ou à son catabolisme. Très répandue chez les micro-organismes, l'induction se manifeste également chez les animaux supérieurs comme le montrent les travaux de Gordon qui obtient une augmentation de l'adénosine-déaminase (adénosine aminohydrolase -3.5.4.4.) en injectant de l'adénosine ; ou des enzymes du métabolisme oxydatif d'acides aminés comme la tyrosine, la phénylalanine et le tryptophane par l'injection de l'un d'eux en excès (rapporté par Driscoll [1958]) ; de même les travaux de Kretchmer (1959) démontrent une augmentation adaptative de la transaminase tyrosine-pyruvique (l-tyrosine : 2 oxoglutarate aminotransférase -2.6.1.5.) du foie par injection de tyrosine chez le Rat.

2. — **Les modifications dans les composantes structurales des apo-enzymes** peuvent entraîner des changements de l'affinité enzyme-substrat : de telles variations au cours de l'âge dans les proportions respectives des iso-enzymes de la déshydrogénase lactique (l-lactate : NAD oxydoréductase-1.1.1.27) ont été rapportées par Clement et Coll. (1959) chez le porc par Bonavita et Coll. (1964) dans le cerveau de Rat.

3. — **L'effet stimulant de certaines hormones sur la synthèse protéique** : ainsi Sereny, Kenney et Kretchmer (1959) démontrent l'intervention de la cortisone dans l'augmentation brutale de la transaminase tyrosine-pyruvique hépatique chez le Rat nouveau-né ; la cortisone ou la tyroxine injectées chez le jeune Rat entraînent une élévation de la glutamine-synthétase (l-glutamate : ammonia ligase-6.3.1.2.) (Wu [1964]) ; de même l'injection de tyroxine stimule l'incorporation des acides aminés dans le cerveau de Rat (Klee et Sokoloff [1964]).

4. — **Libération de l'apo-enzyme préformé mais inactif :** l'activité de l'enzyme s'accroît sans la participation de la synthèse protéique et les inhibiteurs de cette synthèse sont sans effet sur l'augmentation d'activité. La chaîne protéique de l'apo-enzyme, préexistante sous une forme « liée » devient active en se libérant de ce complexe. Il en est ainsi pour la tryptophane-pyrrolase comme l'ont montré Nemeth (1962), Greengard et Coll. (1963).

5. — **Le changement dans la répartition cellulaire de l'enzyme** : ce facteur est responsable de certaines différences dans les résultats obtenus au cours de dosages pratiqués sur des extraits tissulaires totaux.

Ainsi dans le foie de l'embryon de Rat, 20 % de l'activité de la transaminase alanine-glutamique (l-alanine : 2 oxoglutarate aminotransférase-2.6.1.2) sont fixés sur les mitochondries, pour 55 % chez l'adulte (Kafer et Pollak [1961]) — de même l'adénosine triphosphatase du cerveau de Rat (Jordan et Coll. [1956]) est plus concentrée dans le surnageant de centri fugation des homogénats chez le nouveau-né que chez l'adulte.

SYSTEME NERVEUX CENTRAL

Dans les pages suivantes nous nous proposons de rapporter plus en détail les connaissances acquises sur l'évolution biochimique du système nerveux chez le jeune Lapin. Nous verrons successivement l'apparition et l'accumulation des constituants cellulaires, puis l'évolution de quelques systèmes métaboliques, en nous attachant plus particulièrement aux activités enzymatiques, dont le rôle est capital dans la croissance tissulaire et dans la différenciation fonctionnelle des structures. En effet, qu'elle soit due à une synthèse locale ou à l'absorption d'une substance exogène, l'apparition des constituants tissulaires est le résultat d'un mécanisme actif, synthétique ou de transport, dont les enzymes sont responsables.

ACCUMULATION DES CONSTITUANTS

Cette étude nous conduit à développer la notion de **barrière hémo-méningée.**

Dès 1885, Ehrlich constatait l'existence d'une sélection dans les échanges hémo-méningés ; le problème du mécanisme sélectif en jeu à ce niveau fait encore l'objet de nombreuses études, et c'est en partie aux travaux sur l'évolution du fonctionnement de cette barrière que l'on doit les hypothèses actuelles sur les processus de synthèse.

L'introduction des isotopes radioactifs dans les méthodes d'études biochimiques a permis un progrès important dans la connaissance du comportement de la barrière hémo-ménin-

gée vis-à-vis d'un certain nombre de métabolites, et de faire la part entre les constituants d'origine endogène et ceux qui sont d'origine exogène.

Ainsi, à l'aide d'éléments tels que : Na^{24}, P^{32}, C^{14}, H^{2}, il est devenu possible de mesurer le flux de pénétration cérébrale aussi bien des ions Na^{+}, Po_4^{3-}, par exemple, que de molécules comme le CO_2, le glucose, ou l'acide glutamique.

De semblables mesures effectuées comparativement chez l'animal adulte et chez le nouveau-né, démontrent, d'une façon générale, une liberté de passage vers le système nerveux, nettement supérieure chez le jeune animal pendant la période de maturation.

En particulier Guroff et Udenfriend (1964) utilisant du tryptophane, de la tyrosine et de la phénylalanine marqués ont montré que ces acides aminés franchissaient la barrière méningée plus rapidement chez le Rat nouveau-né que chez l'adulte. Les mêmes auteurs ont expérimenté sur le même animal l'effet compétitif de stéréo-isomères et d'inhibiteurs spécifiques de ces acides aminés. Leurs conclusions à ces travaux les conduisent à penser que la barrière immature serait le siège d'un mécanisme de transport actif beaucoup plus intense mais moins sélectif.

Une étude ontogénétique des enzymes responsables de ce transport actif reste à faire pour corroborer cette hypothèse.

La grande liberté de pénétration qui caractérise la barrière hémato-cérébrale du jeune animal peut être responsable d'atteintes graves comme l'ictère nucléaire : on sait que les nouveau-nés présentent fréquemment un ictère néo-natal sans gravité ; dans certains cas l'augmentation du taux de bilirubine devient telle que le pigment biliaire, susceptible de franchir la barrière méningée, vient se fixer sur les noyaux des cellules pyramidales, entraînant une atteinte nerveuse irréversible.

Il semble toutefois que la perméabilité accrue pendant la maturation corresponde à un besoin accru en métabolites dont le rythme d'utilisation est beaucoup plus grand dans cette période où les différentes structures nerveuses se développent rapidement.

Nous avons distingué dans notre étude les constituants hydro-minéraux, d'une part, les constituants organiques, d'autre part.

— Constituants hydro-minéraux

Le maintien de l'équilibre hydro-minéral s'impose comme une nécessité du bon fonctionnement cellulaire. Chez le jeune animal où l'homéostasie est beaucoup plus fragile que chez l'adulte, le système nerveux est particulièrement sensible aux troubles survenant dans cet équilibre ; il n'est pas rare en pédiatrie d'observer qu'une déshydratation soit l'élément causal de manifestations convulsives. La sensibilité relative du système nerveux des nouveau-nés aux fluctuations des apports électrolytiques peut trouver une explication dans les variations de concentration cérébrale en eau et en ions minéraux que l'on a observées au cours de l'âge.

Le contenu en eau du tissu nerveux se maintient au taux élevé de 88,5 % à la naissance ; il décroît rapidement jusqu'au 15e jour, pour atteindre sa valeur adulte de 83,5 % (Graves et Himwich [1955]).

Les ions minéraux, comme les phosphates, le sodium et le potassium, les chlorures, sont l'objet d'une accumulation importante comme l'indiquent les coefficients de pénétration de leurs isotopes radio-actifs. Des mesures de radio-activité de coupes de cortex après l'injection de P^{32} in vivo chez le Lapin montrent un stockage de phosphates trois fois plus important chez le fœtus de 17 jours que chez l'adulte, la capacité de stockage atteignant son niveau minima vers la 7e semaine après la naissance (Bakay rapporté par Waelsch [1955]).

Cependant la concentration totale des ions minéraux diminue suivant le même gradient que l'eau. Cette diminution relative correspondrait peu-être à la réduction des espaces extracellulaires consécutive à l'accroissement des prolongements des neurones et à la myélinisation

Au sein même du tissu nerveux, les proportions intra et extra-cellulaires des constituants hydrominéraux se modifient parallèlement à la croissance cellulaire. Pendant la phase de division cellulaire, la distribution extra-cellulaire du sodium et des chlorures est identique ; à la fin de cette phase qui coïncide chez le Lapin avec la naissance, s'établit une différence sig

nificative dans la répartition de ces ions et l'« espace sodium » devient supérieur. L'étude de cette modification de perméabilité chez plusieurs espèces animales semble indiquer une relation avec l'activité et l'excitabilité corticale (Mc Ilwain [1955] - Flexner [1955]).

D'autre part, la concentration intra-cellulaire en sodium diminue pendant la gestation au profit de la concentration cellulaire en potassium, si bien qu'à la naissance le rapport Na/K est inversé et voisin de 0,89 (Himwich et Coll. [1963]).

L'ensemble de ces modifications concourt à l'établissement de constantes cellulaires telles que le jeu des concentrations ioniques et de la perméabilité des membranes autorisent les mouvements propres à la propagation de l'influx nerveux.

Constituants organiques
Lipidiques.

Les premiers travaux consacrés à l'étude ontogénétique du tissu nerveux chez le Lapin ont été rapportés par Tilney (1931) et Pentzik (1937). Il découle de ces travaux que l'ensemble des lipides s'accroît pendant la période du développement avec les différences suivantes pour les diverses fractions : le taux des lipides simples, des phosphatides phosphatidylcomposés et du cholestérol augmente régulièrement du stade embryonnaire à la fin du premier mois ; tandis que les cérébrosides, les phosphatidalcomposés et la sphyngomyéline ne commencent à s'accumuler que vers le 7e jour après la naissance, à une vitesse parallèle à celle de la myélinisation.

Les études similaires de Folch Pi (1955) chez la Souris ; de Freysz (1963) et Pritchard (1963) chez le Rat, de Dravid et Himwich (1964) chez le Chien aboutissent à cette même conclusion : le phénomène de myélinisation, survenant à la fin de la première semaine, représente un événement capital dans l'évolution de la constitution lipidique du cerveau, d'une part lors de l'apparition des constituants de la myéline, secondairement lors des variations dans sa structure au cours de sa formation (Stallberg-Stenhagen et Svennerholm [1965]).

Quant au mécanisme de ces changements dans la composition lipidique du tissu nerveux, ainsi que le rapporte Richter (1955), de nombreuses expériences à l'aide d'éléments marqués démontrent la participation négligeable des apports extérieurs dans l'enrichissement des stocks de lipides cérébraux. C'est de la capacité synthétique du tissu nerveux que dépend l'accumulation des lipides pendant le développement ; de ce fait, la liaison avec les mécanismes énergétiques est très étroite, particulièrement en ce qui concerne la synthèse des phospholipides, où sont engagées des liaisons phosphoriques riches en énergie.

L'application des techniques radio-biologiques a permis en outre de définir quelques particularités du tissu nerveux immature dans le métabolisme du cholestérol : des acétates marqués ajoutés au milieu d'incubation de coupes de cortex prélevées sur des animaux jeunes, sont utilisés à la synthèse intracellulaire de cholestérol, cette synthèse n'est pas réalisée par le cortex d'animaux adultes (Srere et Coll. [1950]) ; d'autre part, Pritchard et Nicholl (1964) ont mis en évidence la disparition des esters du cholestérol à partir du 14e jour chez le Rat. En effet, l'activité cérébrale cholestérol-estérasique (Stérol-ester hydrolase-3.1.1.13) diminue au cours du développement.

Constituants azotés
— Acides aminés et protéines.

Tandis que le poids total du cerveau augmente, le taux de protéines reste sensiblement constant pendant toute la durée de la gestation ; dans cette période et jusqu'aux 10 premiers jours après la naissance, l'accumulation des protéines est liée d'une part à la vitesse d'incorporation particulièrement élevée de certains acides aminés tels que la glycine, l'acide glutamique, la méthionine, les acides aromatiques — tyrosine, phénylalanine et tryptophane — ; d'autre part, à la synthèse des acides aminés essentiels, extrêmement active chez l'animal nouveau-né, comme le prouve l'addition de glucose marqué, dont le C^{14} se retrouve en fortes proportions dans les acides aspartique et glutamique, dans la leucine, la cystine, la glycine, l'histidine et la lysine (Richter [1955] d'après Winzler).

La nature de l'acide aminé prédominant dans certaines régions dès le début de l'embryogénèse est susceptible d'induire le sens de la différenciation ; ainsi, l'accumulation de phé-

nylalanine au niveau de l'ectoderme ventral participe à la formation de certaines cellules pigmentées comme le suggèrent les travaux de Wilde (1955) sur la différenciation des cellules de la crête neurale.

L'assemblage des acides aminés en molécules protéiques nécessite l'intervention de l'A.T.P. dont l'énergie est utilisée à l' « activation » des amino-acides, opération qui précède leur accrochage aux ARN messagers.

Les enzymes responsables de cette activation sont spécifiques de chaque acide aminé, l'augmentation de leur activité suit le phénomène de croissance. Toutefois, l'intensité de cette activité, spécifique d'un amino-acide, n'est pas relative au taux où cet acide aminé est retrouvé dans les protéines, comme l'ont montré Wender (1962), Wender et Hierowski (1964).

La synthèse protéique dépend de l'activité synthétique des ARN et des ADN tissulaires, et l'ensemble du processus est lui-même influencé par des facteurs humoraux et diététiques (Dobbing [1964] - Richter [1965]). Parmi ces facteurs, il semblerait qu'un stimulant spécifique, le « Nerve Growth Factor », pourrait jouer un rôle important dans les périodes embryonnaire et néo-natale précoce (Levi-Montalcini [1964]). Le problème de l'isolement et de l'identification de ce facteur maintiennent cependant son existence dans le domaine de l'hypothèse.

Le détail des influences hormonales sur le développement du système nerveux devant être développé dans un chapitre particulier, nous rappellerons seulement le pouvoir activateur de l'hormone thyroïdienne sur la synthèse protéique qui se manifeste particulièrement au niveau du tissu nerveux (Klee et Sokoloff [1964]).

— Acides nucléiques.

Dans les premiers stades embryonnaires, le rapport ADN/ARN augmente par l'accroissement des ADN, lui-même proportionnel aux multiplications cellulaires. Ce n'est qu'au début de la gastrulation, lorsque la différenciation commence, que les ARN s'accumulent.

Il semble, comme le rappellent Hermann et Tootle (1964), que la synthèse des ADN exclue partiellement celle des ARN et réciproquement, les voies de synthèse des ADN étant prédominantes pendant les mitoses et déprimant l'édification des chaînes d'ARN soit par compétition dans l'utilisation des substrats, soit par inhibition des enzymes apparentés à la différenciation lors de la mise en jeu des enzymes nécessaires à la division cellulaire.

Nous rapportons ci-dessous les résultats des investigations de Palladin (1955) sur l'évolution des acides nucléiques du cerveau du Lapin :

entre le 16^{e} et le 20^{e} jour de la gestation les taux d'ADN et d'ARN sont élevés et dans un rapport ADN/ARN de 0,9 ; à la fin de la gestation une diminution des acides nucléiques totaux, brutale pour les ADN, diminue ce rapport de moitié (0,45 environ), la même évolution se poursuit jusqu'aux premiers mois après la naissance où le rapport atteint sensiblement sa valeur adulte de 0,25.

Toutefois cette diminution progressive du taux d'ARN, et la chute brutale du taux d'ADN s'accompagnent d'une augmentation parallèle de leur métabolisme, comme le montre l'accroissement de l'incorporation des phosphates dans les chaînes nucléiques.

De même les désoxyribonucléases (désoxyribonucléate - oligonucléotidohydrolase - 3.1. 4.5.) présentent une forte activité dans la période fœtale de différenciation intense, diminuent à la fin de la gestation et après la naissance, puis présentent un second maximum d'activité au moment de l'ouverture des yeux au 9^{e} ou 10^{e} jour.

ETUDE DE QUELQUES SYSTEMES ENZYMATIQUES

— métabolisme oxydatif

Les systèmes métaboliques oxydatifs sont historiquement les plus étudiés.

Quelques travaux ont attiré l'attention sur le fait que, dans certaines conditions les jeunes animaux pourraient présenter une exceptionnelle faculté de résistance à l'anoxie. Inversement, chez le nourrisson, les données cliniques montrent que les dommages causés par une brève anoxie globale sont extrêmement graves.

Cependant, Glass et Coll. (1944), Himwich (1951), Jilek et Coll. (1964) ont défini pour

différents âges la durée maximum de la conservation des activités cérébrales dans des conditions constantes d'anoxie ou d'hypoxie.

D'après ces auteurs, chez le Lapin, au 27e jour de la gestation, l'activité électrique du cerveau persisterait jusqu'à 45 minutes dans une atmosphère d'azote ; à la naissance, la résistance ne se maintiendrait plus que pendant 30 minutes pour se rompre comme chez l'adulte après 2 à 3 minutes d'anoxie dès le 12e jour (Glass et Coll. [1944]).

Ces observations ont entraîné les biochimistes à supposer l'existence d'une grande capacité de respiration tissulaire en phase anaérobie pendant la période néo-natale précoce. En effet, de la fin du stade fœtal aux premiers jours après la naissance, l'activité glycolytique anaérobie, d'abord intense, diminue progressivement tandis que l'oxydation du glucose par la voie tricarboxylique devient fortement prédominante chez l'adulte.

Il semblerait que la résistance à l'anoxie soit proportionnelle à l'importance des enzymes de la glycolyse anaérobie par rapport à ceux du cycle de Krebs. Ainsi dans le cerveau d'embryon de Poulet (Richter [1955] - [1961]), l'activité des enzymes du cycle d'Embden-Meyerhof est prépondérante jusqu'au 6e jour, puis les enzymes du cycle de Krebs et du transport des électrons augmentent progressivement. L'évolution de ces deux voies cataboliques dans le cerveau de Rat est parfaitement similaire (Kuhlman et Lowry [1956]). L'importance relative des enzymes glycolytiques dans la formation d'ATP par les noyaux cellulaires du cerveau du jeune Rat, leur faible teneur en cytochrome C réductase (1.6.99.3) et en cytochrome oxydase (1.9.3.1.) assurant les transferts électroniques en phase aérobie ont également été mis en évidence par Rappoport et Coll. (1963).

Il en est de même chez le Lapin où l'activité de la cytochrome oxydase (Cassin et Heron [1961] - Pigareva [1964]), de la déshydrogénase succinique (succinate : oxydo-réductase-1.3.99.1.) (Cassin et Heron [1961]), de l'aldolase (alditol : oxydoréductase - 1.1.1.21), de l'hexokinase (A.T.P. : d-hexose 6-phospho transférase-2.7.1.1.) (Palladin [1955]), atteignent sensiblement leur niveau adulte vers le 14e jour post-partum.

Enfin Stave (1964) a confirmé, dans différents tissus de jeunes Lapins, la prédominance de la voie glycolytique anaérobie lors de la première partie de la vie post-natale. Cette relation entre les variations du métabolisme du glucose et l'évolution de la durée de la résistance à l'anoxie a été confirmée par les études poursuivies par Jilek et son école depuis 1953 sur la consommation du glycogène, l'effet d'inhibiteurs du métabolisme aérobie, ou de l'hyperglycémie en relation avec la durée de la résistance au cours de l'âge.

Il semble qu'il existe donc une différence fondamentale dans les possibilités de défense des jeunes animaux devant un stress provoqué par une hypoxie.

Dans un premier temps, le métabolisme oxydatif semble adapté aux conséquences de la vie intra-utérine et le glucose est catabolisé suivant une voie qui ne requiert pas d'apports en oxygène ; suit une période intermédiaire où la voie tricarboxylique coexiste avec la précédente, elle s'étend de la fin de la gestation au début de la vie post-natale jusqu'aux environs du 14e jour, chez le Lapin ; enfin la prépondérance du cycle de Krebs sur le cycle d'Embden-Meyerhof s'installe définitivement.

Il n'est pas impensable, comme le suggèrent les travaux que nous venons de citer, que la voie glycolytique anaérobie, plus active chez le jeune animal que chez l'adulte ne maintienne un métabolisme suffisant pour permettre au système nerveux immature de manifester une activité bioélectrique plus durable malgré une anoxie relative. Toutefois, il semble que des expériences complémentaires soient nécessaires pour vérifier en particulier que les animaux soumis à une anoxie dans leur plus jeune âge ne manifestent aucun trouble jusqu'au stade ultime de leur maturation.

Avant d'étudier plus loin quelques systèmes enzymatiques particuliers nous devons souligner un fait capital dans les processus de maturation du système nerveux. L'évaluation de l'activité d'un système biochimique rapportée à la totalité du cerveau ne se suffit pas à elle-même ; nous avons vu qu'au cours de la maturation anatomique, des différences phylogénétiques séparaient chaque structure. Il en est de même pour l'évolution biochimique où les caractéristiques fonctionnelles d'un métabolisme apparaissent en premier lieu dans les structures les plus archaïques.

Ainsi le métabolisme oxydatif et les enzymes de la chaîne glycolytique se développent

d'abord dans le bulbe rachidien, et à la naissance, leur activité est de moins en moins forte au fur et à mesure que l'on s'éloigne de cette structure dans les directions caudale et rostrale. Inversement chez l'adulte l'activité maxima est localisée dans le noyau caudé et le cortex, les niveaux inférieurs de l'axe nerveux sont moins actifs (Chesler et Himwich [1944 a et b]).

Tyler et Van Harreveld (1942), étudiant la consommation d'oxygène du tissu nerveux ont également défini un gradient de maturation des régions caudales vers les régions antérieures.

Une relation entre la mise en jeu de la fonction visuelle et l'apparition d'éléments essentiels dans les structures apparentées a été mise en évidence par Chekunov (1964) : une brusque augmentation des groupements — SH et des ponts — SS — survient dans les protéines des corps de genouillers et dans l'aire visuelle corticale du Lapin, juste avant l'ouverture des yeux.

— métabolisme de l'acétyl-choline

La fonction cholinergique peut être considérée comme une des caractérisitiques essentielles du tissu nerveux ; l'étude de cette fonction d'un point de vue biochimique a donc suscité de nombreuses recherches.

Récemment Burdick et Strittmatter (1965) ont confirmé par leurs travaux sur le Poulet, l'association de l'augmentation des composants biochimiques du métabolisme de l'acétyl-choline avec l'apparition des premiers signes d'activité bioélectrique du tissu nerveux, déjà constatée chez les mammifères par Nachmanson (1940).

Chez le Lapin les cholinestérases (Acylcholine-acyl-hydrolase - 3.1.1.8.) présentent deux maxima d'augmentation : l'un au début de la différenciation, pendant le stade fœtal, l'autre à la naissance et jusqu'au 15^{e} jour où elles atteignent environ 75 % du taux d'activité adulte (Hebb [1956] - Pigareva [1964]). Les variations de l'activité des cholinestérases (Himwich et Aprison [1955] - Siou [1962]) et de la choline acétyl-transférase (Acétyl - CoA : choline acétyl transférase - 2.3.1.6.) (Mac Caman et Aprison [1964]) ont été étudiées dans divers centres nerveux du Lapin : les enzymes parviennent d'autant plus tardivement à leur taux d'activité adulte que les structures sont plus rostrales ; soit, chronologiquement, au 15^{e} jour pour la moelle et le thalamus, au 9^{e} mois dans le colliculus supérieur, vers le 18^{e} mois pour le noyau caudé et le cortex frontal.

En plus des données globales obtenues par les méthodes biochimiques classiques, Siou a détaillé la répartition histologique des cholinestérases sur des coupes de tubercules quadrijumeaux antérieurs, étudiées par une technique histochimique. L'application d'une telle technique permet de voir que les zones d'arborisation terminale des fibres optiques sont le siège des augmentations d'activité les plus rapides, ce qui présente un intérêt primordial dans la confrontation de ces résultats avec les modifications fonctionnelles des voies optiques.

D'après les résultats que nous venons de citer, la maturation biochimique semble beaucoup plus tardive que la maturation fonctionnelle, les constatations antérieures de Aprison permettent cependant d'avancer la compatibilité d'une activité cholinergique normale avec un taux de cholinestérases réduit à 50 %. Or, dans l'ensemble des structures énumérées, le système métabolique de l'acétyl-choline fonctionne à 70 % de son rendement maximum entre le 15^{e} et le 21^{e} jour, lorsque l'animal présente des caractéristiques électro-encéphalographiques déjà très voisines de celles de l'adulte.

— métabolisme des amines cérébrales

Les séquences des synthèses de la nor-adrénaline et de l'adrénaline, de la sérotonine, dépendent des mêmes groupes d'enzymes : des hydrolases transforment dans un premier temps la tyrosine en dopa (dihydroxy-phénylalanine), le tryptophane en son dérivé hydroxylé en 5, puis des décarboxylases les transforment respectivement en dopamine (dihydroxy-tyramine) et en sérotonine (5-hydroxytryptamine) ; l'adrénaline et la nor-adrénaline résultent de l'hydroxylation ultérieur de la dopamine.

De même, le catabolisme des catécholamines et de la sérotonine dépendent d'un même type d'enzymes : les monoamine-oxydases (monoamine : oxygène oxydoréductase - 1.4.3.4.).

Ces similitudes conduisent à l'étude parallèle de ces deux types d'effecteurs.

Leurs précurseurs : la tyrosine et la phénylalanine, le tryptophane, ont un grand coefficient de pénétration cérébrale dans la période néonatale précoce (Gurof et Udenfriend [1964]). Cependant, le taux cérébral des amines elles-mêmes reste inférieur au taux adulte pendant les premières semaines (Karki, Kuntzman et Brodie [1962] - Tyce et Coll. [1964] - Berman, Justice et Hsia [1965]).

La pigmentation jaune homogène indiquant le début de la différenciation des chromaffinoblastes apparaît chez le Lapin vers le 19e jour de la gestation, avec les premiers mouvements réflexes du fœtus. Les premières synthèses de nor-adrénaline ont lieu à la naissance, la pigmentation de ces cellules devient alors intense, des granulations et des vacuoles brunissantes témoignent de l'accumulation de l'effecteur (Smitten [1963]).

Brodie a montré que la nor-adrénaline et la sérotomine se trouvaient à des concentrations d'environ 50 % de leurs valeurs adultes ; l'augmentation de sérotonine est rapide pendant les 10 premiers jours, puis conduit lentement à un maximum vers le 21e jour (Peupeu et Giarman [1962]).

En réalité les faibles teneurs en amines cérébrales tiennent essentiellement de l'immaturité des enzymes formateurs (Bermann, Justice et Hsia [1965]).

Les décarboxylases, de même que les amine-oxydases sont peu actives à la naissance (respectivement 70 et 30 % de l'activité adulte), et présentent un maximum d'activité entre le 12e et le 15e jour (Karki, Kuntzman et Brodie [1962] - Mac Caman et Aprison [1964]).

Ainsi, comme nous l'avons déjà noté pour d'autres ensembles biochimiques, le développement des composantes du métabolisme des mono-amines cérébrales semble coïncider dans ses grandes lignes avec le développement histologique et fonctionnel de l'animal.

— métabolisme de l'acide glutamique

Les particularités du métabolisme des glutamates sont connues depuis 1935 par les travaux de Krebs et de Weil-Malherbe.

La concentration cérébrale en acide glutamique est nettement supérieure à celle des autres acides aminés et cette prédominance est l'un des caractères distinctifs du tissu nerveux.

A la naissance, le taux d'acide glutamique atteint environ 40 % du taux adulte, son augmentation est rapide jusqu'au 15e jour (90 % - 95 %), puis il atteint graduellement sa valeur définitive. Au contraire, la glutamine, également présente à une concentration importante dans le tissu nerveux, atteint sa valeur adulte dès la naissance (Himwich [1962]).

Les études sur la barrière méningée de différents mammifères, dont le Lapin, ont montré chez l'adulte que, si une surcharge en glutamine entraîne une augmentation significative de son taux cérébral, il n'en est rien pour l'acide glutamique. Au contraire, l'animal de moins de 10 jours est capable d'accroître son stock cérébral d'acide glutamique de 20 à 30 % lors d'épreuves de surcharge (Himwich et Himwich [1955] - Berl [1964]).

La suppression des apports en acide glutamique au tissu nerveux par la voie humorale dès le 10e jour nécessite une activité synthétique importante pour satisfaire aux besoins des tissus nerveux qui continuent de s'accroître.

Plusieurs systèmes enzymatiques sont à l'origine de cette synthèse :

1) **la déshydrogénase glutamique** (l-glutamate : NADP oxydoréductase - 1.4.1.4.) catalyse l'utilisation directe des α - cétoglutarates et agit préférentiellement dans le sens d'une amination réductrice. Cet enzyme étudié par Kuhlman et Lowry (1956) chez le jeune Rat est présent dans le cortex dès la naissance, son activité augmente rapidement pendant les 10 premiers jours de la vie post-natale, puis se stabilise.

2) **les transaminases** constituent une voie importante de synthèse de l'acide glutamique à partir de l'acide α-cétoglutarique. Dans le cerveau, comme dans de nombreux autres organes, la transaminase aspartique (l-aspartate : 2-oxoglutarate aminotransférase - 2.6.1.1.) est beaucoup plus active que l'alanine - transaminase. Nous étudie-

rons plus en détail l'évolution de ces réactions dans l'exposé de nos résultats expérimentaux.

3) **le glucose** est lui-même une source d'acide glutamique. Ainsi, l'incubation de coupes de cortex avec du glucose marqué permet de retrouver 45 % de la radioactivité des amino-acides libres dans les glutamates ; de même 53 % du C^{14} sont utilisés à la formation d'acide glutamique 3 minutes après l'injection intra-veineuse de pyruvate marqué (Tower [1958]).

Comme les précédentes, cette voie de synthèse a pour substrat les métabolites de la dégradation du glucose par les enzymes du cycle de Krebs. Nous avons vu, lors de l'étude des métabolismes oxydatifs, que plusieurs de ces enzymes parvenaient à leur niveau adulte d'activité aux environs du 14e jour. Donc, dans le temps où la barrière hémato-cérébrale se ferme à la pénétration des glutamates, la mise en jeu du cycle tricarboxylique apporte les précurseurs qui vont permettre le maintien du métabolisme de ce constituant essentiel.

4) enfin, la **glutamine** constitue une réserve facilement mobilisable sous l'action de la glutamine synthétase ou de la glutamyl transférase (glutamine : d - glutamyl glutamyltransférase - 2.3.2.1.). Les variations de la glutamine synthétase cérébrale, étudiée par Wu (1964) chez le Rat, suivent un accroissement progressif jusqu'au 18e jour après la naissance, selon le schéma évolutif des activités qui caractérisent les processus de maturation, comme l'avaient indiqué les travaux de Rudnick et Waelsch (1955) sur l'embryon de Poulet.

L'importance de l'acide glutamique tient à ses multiples fonctions. C'est ainsi que nous venons de voir que la glutamine constituait une forme de transport susceptible de libérer rapidement une certaine quantité d'acide glutamique. La réaction inverse qui consiste à neutraliser un radical ammoniacal libre a longtemps été considérée comme un phénomène de détoxication ; de fait, la synthèse de la glutamine nécessite un apport d'énergie sous forme d'A.T.P., il semble donc que ce stade soit dynamique et constitue une réserve d'acide glutamique de sécurité ; en effet, le taux de glutamine est très stable et n'est affecté que dans les situations qui atteignent les mécanismes énergétiques : l'hypoxie, quelques agents convulsivants provoquent une diminution importante du taux d'acide glutamique cérébral et une inhibition relative de la synthèse de la glutamine (Tower [1958]).

Une synthèse récente des importants travaux de Waelsch et de ses collaborateurs apporte des données nouvelles sur le principe de défense du système nerveux vis-à-vis des radicaux NH_4^+ libres : le stress biologique provoqué par l'administration de solutions d'ammoniac entraîne une accélération nette de la fixation du CO_2 sur la glutamine, l'acide aspartique et l'acide glutamique ; il semble que cette accélération s'opère au niveau du cycle tricarboxylique, entraînant simultanément une libération accrue de liaisons phosphoriques hautement énergétiques et une augmentation de la quantité d'oxalo-acétates, eux-mêmes utilisés à la synthèse d' α - cétoglutarates puis de glutamine (H. Waelsch [1965]).

Le rôle énergétique de l'acide glutamique chez le Lapin a fait l'objet d'études approfondies par Swaiman (1963), Swaiman et Coll (1964). Chez le Lapin adulte des coupes de cortex ayant pour substrat du glucose et de l'acide glutamique fournissent du CO_2 dont 45 % ont pour origine les seuls glutamates ; au cours de la maturation, le glutamate est utilisé préférentiellement au glucose et cette préférence est la plus marquée au 8e jour ; elle s'estompe entre le 8e et le 16e jour parallèlement à l'augmentation rapide de la consommation en oxygène en présence du glucose seul. (Fig. 5.)

Ainsi l'importance relative des catabolismes oxydatifs de l'acide glutamique et du glucose suit respectivement l'augmentation des possibilités de dégradation du glucose par la voie du cycle de Krebs.

L'acide **gamma-aminobutyrique** (GABA) autour duquel s'est développé depuis quelques années un champ très vaste de recherches, se forme à partir de l'acide glutamique, par deux voies :

— synthèse directe sous l'action de la décarboxylase glutamique (l-glutamate - l-carboxylyase - 4.1.1.15)
— transamination du semi-aldéhyde succinique (4-aminobutyrate : 2-oxoglutarate aminotransférase 2.6.1.19), lui-même dérivant de l'acide α-cétoglutarique.

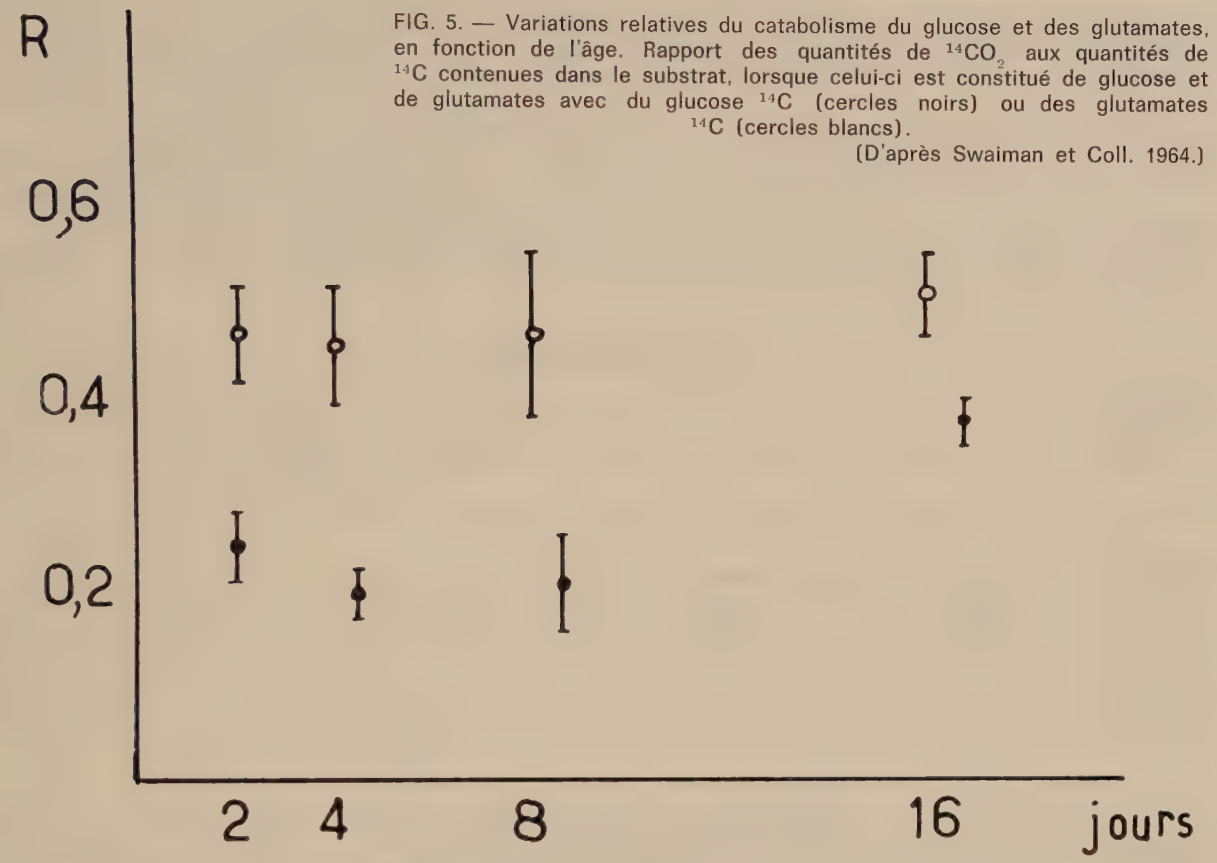


FIG. 5. — Variations relatives du catabolisme du glucose et des glutamates, en fonction de l'âge. Rapport des quantités de $^{14}CO_2$ aux quantités de ^{14}C contenues dans le substrat, lorsque celui-ci est constitué de glucose et de glutamates avec du glucose ^{14}C (cercles noirs) ou des glutamates ^{14}C (cercles blancs).
(D'après Swaiman et Coll. 1964.)

L'activité de la décarboxylase glutamique du cerveau de Lapin, faible à la naissance (30 % du taux adulte) augmente rapidement jusqu'au 20e jour (Schadé et Baxter [1960] - Himwich et Coll. [1961]) et les travaux de Van der Berg et Van Kempen (1964) ont montré que chez le Rat la décarboxylase et la transaminase du GABA suivent sensiblement la même évolution.

Or le taux de GABA s'élève lui-même de 50 % entre le 1er et le 15e jour post-partum (Schadé et Baxter [1960] - Berl [1965]). (Fig. 6)

Il est à noter que la localisation de la transaminase butyrique est essentiellement corticale, ce fait pourrait avoir une relation avec le rôle possible de ce métabolite dans les connexions inter-neuronales (Pitts et Coll. [1965]).

La participation de l'acide glutamique à la synthèse protéique est très importante et résulte des actions conjointes des enzymes activateurs d'amino-acides et des transaminases. Notons la présence dans le tissu nerveux de cystéinyl - glutamate, assemblage précurseur du glutathion, dont la fonction de co-enzyme de certains systèmes oxydo-réducteurs est essentielle au métabolisme du tissu nerveux.

L'acide glutamique occupe donc une position clef dans l'économie du système nerveux, au carrefour du métabolisme des hydrates de carbone et des produits azotés, associé au système énergétique de la glutamine et à la synthèse de l'acide γ-aminobutyrique, spécifique du système nerveux central.

Son importance est démontrée par l'atteinte à l'équilibre de ce système lors d'agressions comme l'hypoxie ou les phénomènes convulsifs.

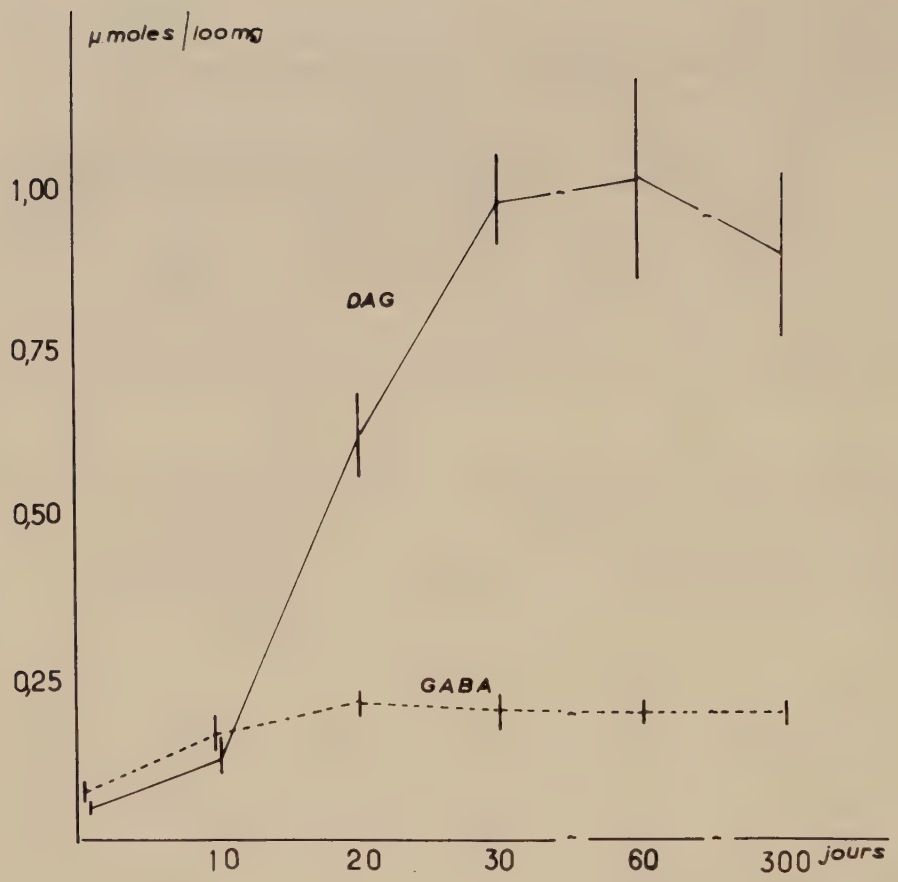


FIG. 6. — Variations du taux d'acide gamma-amino-butyrique (GABA) et de l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique (DAG), dans le cortex cérébral en fonction de l'âge. Expression en µmoles de GABA pour 100 mg ; et en µmoles de GABA libérées par la DAG contenue dans 100 mg, en 30 mn. D'après Schadé et Baxter (1960).

CONCLUSION

La revue rapide que nous venons de faire des principaux travaux qui concernent la biochimie de l'ontogénèse du système nerveux central, laisse apparaître quelques possibilités de corrélations avec les différentes étapes de la maturation fonctionnelle, telles que les ont décrites les neurophysiologistes.

Cependant il est regrettable de constater que très peu de travaux ont été jusqu'ici consacrés à l'étude d'un mécanisme biologique dans son entité, chez un même animal.

En effet, les études isolées de phénomènes biochimiques les plus divers sont susceptibles d'apporter de nouvelles données à notre connaissance de l'ontogénèse, mais elles posent chaque fois la question de savoir si les phénomènes qui précèdent et qui suivent ce maillon évoluent suivant les mêmes modalités.

Dans notre exposé sur le métabolisme oxydatif, nous avons pu illustrer par de nombreux travaux les variations de l'activité de deux voies différentes de la glycolyse, l'une suppléant l'autre, puis la dépassant rapidement au cours du développement. Il serait souhaitable que d'autres grands processus soient ultérieurement étudiés dans une optique aussi générale.

ASPECT PHARMACOLOGIQUE

La sensibilité particulière des organismes immatures aux agents pharmacodynamiques est un phénomène connu, de nombreux faits cliniques ou expérimentaux peuvent constituer en eux-mêmes un chapitre : la pharmacologie du développement.

La récente revue de Done (1964) sur ce sujet met en relief la double possibilité d'obtenir un effet soit augmenté, soit diminué, par rapport à l'effet sur l'animal adulte, lorsqu'on administre une substance à un nouveau-né.

Ainsi la strychnine et le cardiazol administrés par voie intra-péritonéale sont 3 à 4 fois moins toxiques pour le Rat nouveau-né ; chez le même animal, la toxicité est de 3 à 6 fois supérieure pour la brucine et la picrotoxine (rapporté par Done [1964]).

Chez la Souris, la toxicité de l'histamine augmente progressivement au cours du développement. Au troisième jour la résistance est quatre fois plus grande qu'au 18e jour (Halpern [1962]).

Deux types de facteurs peuvent expliquer ces différences :

a) — des facteurs biochimiques règlent **l'absorption**, le **métabolisme** et l'**excrétion** ; c'est du taux d'activité des chaînes enzymatiques responsables de ces étapes que dépendront la durée et l'intensité de l'action ;

b) — le **degré de maturité de l'organe** ou de la structure cible, conditionne le type et l'intensité des effets.

Quelques études ont été entreprises sur l'évolution des voies métaboliques de divers médicaments au cours de l'ontogénèse. Citons les travaux de Fouts et Adamson (1959) chez le Lapin : pendant les deux premières semaines, des homogénats de foie ont une activité métabolique vis-à-vis de l'hexobarbital, de l'aminopyrine, de l'amphétamine, réduite à 5 ou 40 % de l'activité du foie adulte, celle-ci est seulement atteinte vers la quatrième semaine. Des études similaires ont été faites chez la Souris et le Cobaye (Jondorf, Maickel, Brodie et Coll. [1958]).

Plus récemment, Kato, Vassanelli et Frontino (1964) ont mis en évidence l'activité métabolique croissante des mitochondries des cellules hépatiques du Rat au cours du développement, celles-ci présentent une activité maxima au 30e jour, qui décroît lentement jusqu'à l'âge adulte. Au 30e jour, où le métabolisme est le plus rapide, correspond un minimum d'activité pour le pentotal et un maximum d'activité pour l'octa-méthyl-phosphoramide (relaxant musculaire). La dégradation enzymatique du pentotal entraîne son inactivation, celle du méthyl-phosphoramide produit un métabolite à action anti-cholinestérasique.

En effet, suivant que le produit de dégradation sera lui-même actif ou bien, au contraire, dénué d'activité pharmacodynamique, la déficience des enzymes dégradant une substance entraînera respectivement une augmentation ou une diminution de ses effets.

Le cas particulier des barbituriques mérite une mention spéciale : l'activité et la toxicité des barbituriques sont particulièrement puissantes chez l'animal nouveau-né. Leur administration dans les premiers jours du post-partum entraîne une dépression rapide et marquée de l'amplitude de l'E.Co.G. ;et pour des doses nettement inférieures aux doses thérapeutiques usuelles en anesthésie chez l'animal adulte, on observe une léthalité importante à la suite d'une dépression respiratoire brutale et irréversible. La carence en enzymes responsables de la dégradation par oxydation de la chaîne latérale de la molécule, constatée chez les jeunes animaux, explique au moins partiellement cette intensité d'action.

L'élimination des métabolites s'effectue le plus souvent sous forme de dérivés glycuroconjugués. Les enzymes qui assurent la conjugaison (β - d - glucuronide glucuronohydrolase - 3.2.1.31.) ou la synthèse de l'acide glucuronique (uridine - diphospho - glucose oxydo - réductase-1.1.1.22.) peuvent également entraîner, s'ils font défaut chez l'animal immature, une augmentation de la durée et de l'intensité de l'action des médicaments (Done [1964] - Flint et Coll. [1964]).

Nous avons dit que la maturation fonctionnelle des structures où agissent les agents pharmacodynamiques était susceptible d'influencer l'action de ces agents : en effet, à dose

constante, les convulsivants ne produisent pas, chez les animaux nouveau-nés, toutes les phases des crises maximales observées chez l'adulte (Pylkko et Woodburry [1961] - Webb et Davis [1964]).

De plus, comme le révèle l'étude électro-ontogénétique, l'aspect même des signes E.Co.G. correspondant à l'administration d'agents convulsivants, évolue au cours de l'âge. Les activités paroxystiques induites par les stimulants centraux subissent des variations qualitatives, de plus il existe des différences dans la susceptibilité pharmacologique entre animaux jeunes et animaux adultes. D'une façon générale, les auteurs ont trouvé des doses léthales 3 à 4 fois plus élevées chez les animaux nouveau-nés (Karasik [1959] - Woodburry et Coll. rapporté par Done [1964]).

L'action d'autres agents tels que l'acétylcholine et le GABA (Sobotka, Myslivecek et Coll. [1965]), actifs au niveau des synapses est également liée au degré de maturité morphologique de ces dernières :

— l'acétylcholine n'entraîne que des variations d'amplitude EEG chez les jeunes et ce n'est qu'à la troisième semaine qu'apparaissent les bouffées sporadiques puis les décharges continues observées chez l'adulte.

— le GABA diminue ou supprime la phase primitive des réponse corticales aux stimulations des corps genouillers vers la fin de la 2e semaine, et reste sans action avant cette date.

De même, l'administration d'uréthane à de jeunes Lapins aux doses habituellement employées chez l'animal adulte, entraîne, suivant l'âge, des modifications E.Co.G. différentes. Jusqu'au 6e jour, l'uréthane induit une diminution d'amplitude sans modifier la fréquence des oscillations ; entre le 7e jour et le 14e, il fait apparaître des bouffées d'ondes synchrones dont la fréquence augmente progressivement jusqu'à 1 à 2 c./sec.

Cette différence d'action tient vraisemblablement à l'inexistence des relations subcortico-corticales dans les premiers jours du post-partum si l'on sait que l'uréthane agit essentiellement au niveau des centres sous-corticaux (Schwartze et Gopfert [1965]).

CONCLUSION

L'étude ontogénétique des actions pharmacologiques présente un double intérêt :

— elle peut permettre d'indiquer ou de confirmer le degré de maturité d'une structure anatomique suivant la morphologie et l'intensité de ses réactions vis-à-vis d'un agent spécifique ;

— la mesure des variations d'intensité et de la durée d'action d'un médicament peut réfléter le rythme de son métabolisme et par conséquent le degré d'activité d'un ou plusieurs systèmes enzymatiques.

Sous ce double aspect, l'observation des modifications neuro-physiologiques et comportementales, peut conduire à mettre en évidence une phase critique du développement, et l'administration d'un agent pharmacologique possédant cette propriété peut définir un critère de maturation. Il en est ainsi pour la strychnine comme l'a démontré Bishop (1950).

ASPECT NEUROPHYSIOLOGIQUE

Tandis que les modifications histologiques et biochimiques s'opèrent au niveau du système nerveux, les manifestations électriques cérébrales spontanées et les réponses évoquées s'enrichissent parallèlement.

Paradoxalement, l'étude ontogénétique de l'activité bio-électrique corticale sous la seule forme facilement enregistrable. c'est-à-dire l'électroencéphalogramme (EEG), a été entreprise chez l'enfant dès l'entrée dans le domaine pratique de l'électroencéphalographie ; et c'est ultérieurement que les premières observations expérimentales ont été faites chez l'animal.

Nous conviendrons de ne citer ici que les travaux ayant trait aux données expérimentales, et plus particulièrement ceux qui se rapportent au Lapin.

Les premiers Kornmüller (1935) et Pentzik (1937), ont appliqué les méthodes E.E.G. à l'étude ontogénétique du Lapin. Ces investigations sommaires, à la mesure des possibilités techniques de l'époque, sont restées sans écho pendant une longue période, puis, à partir de 1950, différentes écoles se sont préoccupées de définir l'ensemble des caractéristiques de l'activité électrique du système nerveux central correspondant à chaque âge.

Parmi les principales, nous citerons les écoles de Shadé, à Amsterdam, de Himwich, de Caveness, aux Etats-Unis, de Pampiglione, en Grande-Bretagne, en France, celles de Laget, Jouvet, Passouant et Scherrer, en Tchécoslovaquie, celle de Myslivecek, en Suède, celle de Berhard et Coll., etc...

Avant d'aborder les résultats expérimentaux obtenus jusqu'à nos jours, il convient de préciser quelques points particuliers aux techniques neurophysiologiques appliquées aux jeunes animaux. Comme nous le verrons plus en détail dans les chapitres suivants, les animaux nouveau-nés, spécialement le Lapin, présentent une profonde immaturité végétative qui a pour conséquence une grande facilité du fonctionnement nerveux. Aussi l'exactitude des conclusions qui résultent de l'expérimentation est-elle conditionnée par une surveillance minutieuse du maintien de l'homéostasie de l'animal : la température interne, le fonctionnement cardiaque et la ventilation pulmonaire nécessitent une surveillance étroite, l'administration d'agents pharmacologiques doit être parcimonieuse.

De plus, conformément à une vue logique de ce genre de recherches, il est souhaitable d'associer les expériences pratiquées sur des préparations aiguës à l'examen de préparations chroniques, où les activités de l'animal sont comparées, au cours du temps, à sa propre activité de la veille. Nous avons nous-même été amené à mettre au point une méthode d'implantation à demeure d'électrodes d'enregistrement, dont nous ferons l'étude critique au moment de l'exposé de cette technique.

Enfin, le respect scrupuleux des précautions que nous venons d'énoncer ne met pas l'expérimentateur à l'abri des fluctuations individuelles. Les variations d'un animal à l'autre dans le temps d'apparition d'un phénomène précis imposent une extension des observations à des séries statistiquement valables, avant de conclure à la correspondance d'un degré de maturité avec un âge déterminé.

La juxtaposition d'un grand nombre de résultats obtenus sur des préparations curarisées, sous respiration artificielle, ou chroniques en condition de liberté, a permis de définir un tableau évolutif marqué par l'apparition successive et dans un ordre chronologique constant, d'événements caractéristiques pour chaque âge ; l'addition de ces éléments parvenant à une similitude progressivement complète avec les résultats expérimentaux obtenus sur l'animal adulte.

Pour la clarté de notre exposé, nous avons relaté séparément l'évolution des activités spontanées, des activités évoquées et des activités paroxystiques, bien que la plupart des auteurs aient exploré l'ensemble de ces trois phénomènes.

ACTIVITES SPONTANEES

Pour des raisons de facilité de mise en œuvre, de très nombreux travaux ont été consacrés à l'électro-ontogénèse corticale. C'est donc sur l'électro - corticogramme (E.Co.G.) que nous nous étendrons tout d'abord.

La morphologie du tracé, définie par l'amplitude et la fréquence, la localisation et la réactivité de l'activité spontanée, constituent trois variables que nous nous proposons d'étudier au cours de l'âge.

Les premières descriptions de Shadé (1959) ont défini les grandes lignes des séquences évolutives qui séparent les E.Co.G. du Lapin nouveau-né et de l'adulte.

Les études ultérieures ont permis de préciser un certain nombre de données qui sont venues modifier ou compléter ce premier état de nos connaissances.

A l'heure actuelle, la majorité des spécialistes de la question s'accordent pour discerner l'évolution suivante :

— dès la naissance, le cortex présente une activité continue de faible amplitude avec des périodes de renforcement. Les dérivations bregmatiques se distinguent des dérivations postérieures par une activité plus stable et d'amplitude plus élevée (30 à 40 µV pour 10 à 15 µV dans la région occipitale (Laget et Delhaye [1962]). (Fig. 18.) [1]

— au 2e jour au plus tard, les stimulations douloureuses provoquent une réaction d'éveil parfaitement caractérisée, avec diminution brutale de l'amplitude, remplacement des éléments de sommeil de 6 à 8 cycles/seconde (c/sec.) par une activité plus rapide correspondant à la vigilance (Laget et Delhaye [1962] - Petersen, Di Perri et Himwich [1964]).

— le voltage des oscillations suit une augmentation régulière (40 à 50 µV au 5e jour, 60 à 80 µV au 7e jour, plus de 150 µV au-delà du15e jour). (Fig. 19 à 23.)

— à partir du 9e jour, la réaction d'éveil s'accompagne de bouffées d'activités lentes sur les dérivations postérieures ; ces activités correspondent à la projection corticale du rythme théta hippocampique (Laget et Delhaye [1961]). Les bouffées d'abord très brèves et inconstantes tendent à s'individualiser de plus en plus nettement dans les jours suivants. (Fig. 24.)

— la fréquence des oscillations pendant l'état de sommeil diminue progressivement. La maturation du tracé se caractérise vers le 8e jour par l'apparition de fuseaux sur les dérivations bregmatiques répartis de manière asymétrique. (Fig. 21). A partir du 9e ou 10e jour, tandis que les fuseaux deviennent plus nombreux, le tracé s'enrichit en ondes lentes et amples de 3 à 4 c/sec. (Fig. 22 - 23.) La synchronisation contra-latérale des fuseaux est établie plus tardivement, vers le 18e jour (Laget et Delhaye [1962]).

Depuis quelques années, les équipes de Jouvet, à Lyon, de Cadilhac et Passouant, à Montpellier, ont développé la notion de « sommeil agité » ou « sommeil paradoxal », telle qu'elle avait été décrite primitivement par Dement (1957). Cette phase particulière, dite paradoxale, se caractérise par une activité corticale rapide et de bas voltage (Jouvet et Coll. [1959]) associée à un rythme théta hippocampique (Cadilhac, Passouant - Fontaine et Passouant [1961]).

Ces auteurs ont décrit les modalités de l'évolution du sommeil paradoxal chez le Chaton (Valatx et Jouvet [1964]).

L'apparition de ce type d'activité a été décrite chez le Lapin vers le 7e jour (Petersen, Di Perri et Himwich [1964]).

L'enrichissement progressif du tracé électrocorticographique que nous venons de décrire montre une corrélation probable entre ce phénomène et les modifications architecturales que nous évoquions précédemment.

L'apparition vers le 9e jour d'une projection corticale de l'éveil archéocortical a suscité un certain nombre de travaux sur l'électro-ontogénèse de l'hippocampe.

Les enregistrements recueillis à l'aide d'électrodes profondes situées dans l'hippocampe révèlent chez l'animal adulte l'existence d'une réaction d'éveil particulière : à l'inverse de ce que l'on observe sur le néocortex, l'éveil archéocortical se traduit par l'apparition d'une ac-

1. — Pour plus de facilité dans la confrontation des résultats expérimentaux, nous avons placé l'ensemble des illustrations 18 à 26 au chapitre correspondant (pages 65 à 73).

tivité lente, ample et régulière. Aux fréquences rapides de sommeil (12 à 15 c/sec.) succède alors une activité de fréquence basse (5 à 6 c/sec), et cette réaction est visible dès la fin de la première semaine (Cadilhac et Passouant-Fontaine [1961] - Gogolak, Petsch et Stumpf [1963]).

Cependant, l'activité spontanée de l'hippocampe du jeune Lapin subit des variations beaucoup plus complexes, comme l'a montré Thomson (1965) :

— pendant les deux premiers jours le tracé de sommeil se caractérise par une activité de fréquence variable (8 à 16 c/sec.) en bouffées inorganisées, tandis que le tracé d'éveil est d'une amplitude plus faible et d'une fréquence plus élevée. L'éveil brutal, provoqué par une stimulation douloureuse entraîne les mêmes modifications avec parfois l'apparition de bouffées lentes (3 c/sec.) mais fugaces ;

— entre le 4e et le 8e jour, l'état de veille s'accompagne de bouffées en fuseaux de 6 à 10 c/sec., tandis que les activités lentes provoquées par les stimulations douloureuses tendent à se développer ;

— après le 8e jour, les éléments de 6 à 10 c/sec. disparaissent, les stimulations douloureuses entraînent une activité qui croît en régularité et en fréquence jusqu'à ressembler sensiblement aux rythmes théta de l'adulte.

Il semble en réalité, comme le propose l'auteur, que les modifications ontogénétiques observées dans les rythmes hippocampiques soient le résultat d'un entraînement par d'autres structures, septales en particulier. L'entraînement dépendrait de la maturité fonctionnelle des connexions entre ces structures et l'hippocampe ; et cette maturité surviendrait tardivement.

En effet, l'auteur observe la disparition des caractères adultes du tracé hippocampique après section des afférences septales, et le retour des rythmes initiaux caractéristiques de l'animal nouveau-né.

Ici encore des considérations d'ordre anatomique pourraient venir à l'appui de cette hypothèse. Notre ignorance du développement des connexions synaptiques à ce niveau n'ont pas encore permis une telle confrontation.

De cette première partie de l'exposé, il se dégage la notion d'une évolution progressive des fréquences et des amplitudes, à laquelle vient s'ajouter l'apparition, dans une période définie entre le 8e et le 10e jour, d'éléments nouveaux comme les fuseaux et les ondes lentes de sommeil, la projection corticale de l'éveil hippocampique. Nous verrons que cette même période se singularise par des changements aussi caractérisés dans les autres activités corticales.

ACTIVITES EVOQUEES

La stimulation des voies sensorielles ou sensitives entraîne l'apparition, au niveau de leurs projections corticales, d'activités bioélectriques particulières, connues depuis Bartley et Bishop (1933) sous le nom de potentiels évoqués.

A la naissance ces réponses sont différentes de celles que l'on observe chez l'adulte, et sont l'objet de modifications au cours du développement de l'animal.

Avant d'aborder la revue des travaux qui ont porté sur l'étude de l'évolution des potentiels évoqués au cours de l'âge, nous rappellerons ici la morphologie de ce phénomène chez l'animal adulte : précédé d'un accident correspondant à l'arrivée des influx émanant du dernier relai spécifique, le potentiel évoqué se présente sous la forme d'une onde diphasique : une phase positive suivie d'une phase négative ; le temps de latence dépend du temps de conduction du message le long des voies sensorielles et du nombre de relais synaptiques franchis; la première phase est brève (10 à 20 ms) et la seconde, de morphologie et d'amplitude plus variables, est souvent beaucoup plus longue, jusqu'à 200 ms. (Fig. 25 - 15e jour.) [1]

Les premières observations sur l'ontogénèse des potentiels évoqués corticaux chez le Lapin ont été rapportées par Hunt et Goldring (1951), et portaient sur le tractus visuel.

Ultérieurement, de nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de la maturation des

1. — Comme nous l'avons indiqué précédemment, les figures correspondant à ce chapitre se trouvent aux pages 65 à 73.

activités évoquées chez divers animaux de laboratoire. Chez le Lapin, ces travaux ont concerné principalement les réponses aux stimulations des voies visuelles (Fourment et Cramer [1961]), auditives (Anggard [1965] - Hassmanova, Myslevecek et Coll. [1965]), ou somesthésiques (Laget et Delhaye [1962] - Ata-Muradova [1963] - Delhaye-Bouchaud [1964]).

L'étude des réponses à ces trois types de stimulations permet de dégager quelques notions générales.

Trois caractères de la réponse évoquée évoluent au cours de sa maturation : **le signe de sa phase initiale, sa latence, sa fatigabilité**. Les réponses évoquées corticales du jeune animal consistent en une onde ample de longue latence, très fatigable, biphasique, et dont la première phase, à l'inverse de l'adulte, est surface négative, à l'exception toutefois de la réponse auditive dont on a dit que la morphologie différait sur ce dernier point (Ellingson et Willcott [1960]).

Cette exception faite, l'évolution générale, pendant la vie post-natale, des activités corticales évoquées par stimulation des récepteurs sensoriels, consiste essentiellement en une diminution progressive de la latence et de la fatigabilité, et surtout en l'apparition d'une première phase surface positive qui donne au potentiel évoqué sa morphologie adulte

Etant donné que nos expériences ont porté sur les potentiels évoqués visuels et somesthésiques, nous ne développerons dans les pages suivantes que les notions qui se rapportent à ces deux activités.

La rapidité de maturation du phénomène est variable d'un type de stimulation à l'autre, et les différences tiennent au degré de maturité des récepteurs, des voies et des relais, des aires de projection. A tous points de vue, c'est la réponse somesthésique qui présente la maturation la plus rapide.

Nous avons emprunté aux importants travaux de Laget et de Delhaye les données actuelles concernant l'évolution de la réponse évoquée **somesthésique.**

Dès la naissance, la stimulation électrique de la branche sous-orbitaire du trijumeau (ramification du nerf maxillaire supérieur) permet d'obtenir une réponse évoquée corticale sur l'aire de projection sensitive située dans la région latérale bregmatique. Lorsqu'elle est recueillie sur l'aire de projection **contra-latérale**, la réponse présente les caractères décrits précédemment.

Pendant les 6 premiers jours, seule la latence est modifiée (en moyenne 35 msec. au 2^{e} jour - 25 msec. au 6^{e} jour) ; la morphologie biphasique, surface négative ample suivie d'une longue surface positive de faible amplitude se maintient jusqu'à cette date ; à partir du 7^{e} jour, chez certains animaux, apparaît une phase initiale positive brève et de faible amplitude, inconstante, qui ne devient systématique qu'au 9^{e} jour.

Ultérieurement, l'amplitude de cette phase surface positive s'accroît et sa morphologie se précise, tandis que la phase surface négative secondaire devient fluctuante en amplitude et en morphologie.

L'apparition de la phase surface positive initiale entraîne un brutal raccourcissement de la latence (18 msec. au 9^{e} jour en moyenne) suivi d'une diminution progressive pendant encore quelques jours ; au 13^{e} jour le phénomène présente sensiblement les caractéristiques du phénomène adulte (fig. 25).

La réponse somesthésique **homo-latérale** obtenue par stimulation du même nerf se présente tout à fait différemment : sa morphologie se caractérise par une onde monophasique positive, longue, de latence sensiblement égale à celle de la phase positive tardive du potentiel évoqué contra-latéral. Entre la réponse immature du 1er jour et celle du 15^{e} jour, la seule modification concerne la diminution de la latence (80 msec. en moyenne au 1er jour - 20 à 25 msec. au 15^{e} jour).

La fatigabilité des réponses évoquées immatures présente également quelques particularités. L'étude détaillée de la fatigabilité du potentiel évoqué somesthésique contra-latéral montre les variations suivantes :

— pendant les 8 premiers jours, la phase surface négative initiale décroît fortement en amplitude pour des fréquences de stimulation allant jusqu'à 0,5/sec.

— après le 8^{e} jour, la phase surface positive initiale d'abord très labile, devient de moins

en moins fatigable jusqu'à présenter une diminution d'amplitude maximale de 45 % pour une fréquence de stimulation de 1/sec., comme chez l'animal adulte. Au contraire, dans la même période, la phase négative diminue en amplitude, jusqu'à disparaître pour des fréquences de stimulation de 1 à 2/sec., alors qu'elle se maintient à une amplitude minima de 15 % de la normale au cours de la première période.

L'évolution des réponses évoquées **visuelles** décrite par Hunt et Goldring est très voisine de celle-ci, à ceci près que la phase surface positive initiale ne s'établit que vers le 11^{e} jour, la latence adulte vers le 15^{e} jour, donc avec un certain retard sur la maturation des réponses somesthésiques.

D'autre part l'immaturité de la rétine et l'opacité des globes oculaires empêchent l'apparition des réponses visuelles aux stimulations lumineuses jusqu'aux 24 ou 48 heures qui précèdent l'ouverture spontanée des paupières (au 9^{e} jour chez le Lapin) ; et les réponses obtenues au 7^{e} ou 8^{e} jour ont une latence considérablement plus longue que celles qui sont évoquées par la stimulation électrique du nerf optique au niveau du chiasma.

Nous avons représenté sur la figure 26 (p. . .) les potentiels évoqués visuels obtenus par stimulation photique chez le Lapin en cours de développement.

En outre, à la suite des réponses évoquées par des stimulations diverses, l'on observe sur l'aire de projection corticale correspondante une **post-décharge** répétitive, d'amplitude habituellement égale à celle de la réponse proprement dite et de morphologie variable.

Cette post-décharge possède généralement une latence importante (300-400 msec.) et irradie à la périphérie de l'aire réceptrice, de telle sorte que l'on peut l'observer sur l'E.Co.G. Ses caractères ne semblent pas évoluer avec l'âge.

Il découle de ce qui précède que la phase surface négative du potentiel évoqué possède des caractères immatures très prononcés et s'oppose en cela à la phase initiale positive (Delhaye - Bouchaud [1964]) ; en effet, nous allons voir qu'une autre particularité de la phase négative immature s'ajoute aux données précédentes : la comparaison des réponses obtenues successivement dans les couches de plus en plus profondes du cortex montre que la réponse surface négative croît en amplitude dans les couches superficielles et s'inverse à un niveau plus profond que la réponse surface positive.

L'ensemble de ces caractères a porté les différents auteurs à admettre l'hypothèse suivant laquelle la phase négative du potentiel évoqué immature aurait son origine dans la mise en jeu de structures synaptiques situées plus près de la surface corticale que celles qui intéressent la phase surface positive initiale.

Les études de Purpura, Shadé et Baxter, Scheibel et Scheibel, que nous avons citées au chapitre précédent ont en effet montré que le développement histologique chez l'animal nouveau-né est beaucoup plus avancé dans les couches corticales superficielles que dans les couches profondes ; en particulier, les relations axo-dentritiques entre les cellules pyramidales et les couches corticales externes sont précocement établies grâce aux dendrites apicaux dont les arborisations sont beaucoup plus fournies que celles des dendrites basilaires.

Les propositions récemment exposées par Lindsley (1964) viennent à l'appui de cette hypothèse ; selon cet auteur, la phase négative des réponses évoquées aurait pour élément conducteur les voies sensitives non spécifiques, tandis que la phase positive apparaîtrait avec l'établissement des connexions axo-somatiques et axo-dendritiques des voies sensitives spécifiques.

L'on peut rappeler à ce propos que chez les vertébrés inférieurs, la Grenouille, par exemple, les voies lemniscales n'existent pas, et que l'on trouve seulement des voies extra-lemniscales formées d'un grand nombre de neurones. Ce rapprochement nous ramène à l'hypothèse générale suivant laquelle ontogénèse et phylogénèse sont liées.

En plus du développement des prolongements cellulaires, des migrations qui ont lieu dans les couches corticales, de l'enrichissement des systèmes synaptiques, qui participent dans une large mesure à l'acquisition progressive des caractéristiques de la maturité, un autre phénomène contribue à cette évolution : la myélinisation. Celle-ci, qui paraît survenir dans de nombreux systèmes vers le 7^{e} jour après la naissance du Lapin, est au moins partiellement responsable du raccourcissement des latences des différentes activités évoquées.

Sans que les corrélations histo-fonctionnelles soient établies avec plus de certitude, nous allons voir que l'évolution de la morphologie des activités paroxystiques présente des particularités qui permettent de proposer des hypothèses similaires pour expliquer ses origines.

ACTIVITES PAROXYSTIQUES

Les éléments paroxystiques de l'E.E.G. tirent leur nom de ce qu'ils sont toujours présents lorsque se développe une crise convulsive généralisée ou localisée, qu'elle soit spontanée ou évoquée. Ils ne sont jamais représentés sur les enregistrements de sujets normaux, cependant ils peuvent exister en dehors des crises convulsives.

La fréquence des manifestations convulsives et leur seuil de déclenchement particulièrement bas, tels qu'on les observe chez les nourrissons, ont conduit à penser qu'il existait une sensibilité propre aux sujets jeunes.

Nous verrons dans ce chapitre que les crises convulsives enregistrées chez les mammifères nouveau-nés diffèrent profondément de celles que l'on peut voir chez l'adulte et ceci en deux points : la morphologie des grapho-éléments paroxystiques et la séquence des phases successives.

Bien qu'un certain nombre de recherches expérimentales se soient déroulées sur ce thème, nous ne disposons, à l'heure actuelle, que de données fragmentaires ; aussi établirons-nous tout d'abord les principes de l'évolution des signes E.E.G. paroxystiques chez l'enfant, à partir des observations cliniques, beaucoup plus nombreuses et systématiques (d'après Laget et Salbreux [1966]).

Les « pointes » constituent le grapho-élément de base de toutes les manifestations convulsives. Il s'agit d'accidents d'amplitude variable, généralement élevée (plusieurs centaines de µVolts) et de brève durée (quelques dizaines de msec.) ; ils correspondent à la décharge exceptionnellement synchrone d'un grand nombre de neurones fonctionnant normalement en ordre dispersé.

Ces pointes peuvent être isolées ou diversement associées en polypointes. Lorsqu'elles sont suivies d'une onde lente, elles constituent le complexe dénommé « pointe-onde »; il existe une riche variété de cette association allant de la pointe seule à l'onde lente groupée en trains rythmés, qui passe par l'onde encochée, l'onde lente à front raide..., etc...

Chez le jeune la distinction essentielle réside dans la plus longue durée de la pointe, et Bishop (1950), dans un travail sur le Lapin, a mis en évidence les variations au cours de l'âge des trois paramètres de la morphologie des pointes triphasiques provoquées par l'application d'un cristal de strychnine sur le cortex :

— la durée du phénomène diminue rapidement, et plus particulièrement la seconde phase (négative) subit significativement cette diminution en fonction de l'âge suivant une asymptote ;
— la fréquence des pointes augmente suivant une courbe en S ;
— l'amplitude augmente de manière irrégulière.

Si l'on considère maintenant la crise convulsive dans son ensemble, sous son aspect le plus typique, c'est-à-dire la grise de « grand mal », la succession de différentes séquences chez l'homme adulte est la suivante :

— précédant la phase critique, l'on constate une accentuation des anomalies intercritiques, accompagnée dans quelques cas de l'apparition d'activités rapides et de faible voltage qui croissent progressivement en amplitude tandis que leur fréquence diminue ;

— des décharges de polypointes de fréquence variable, mais souvent élevée (12 - 15 c/sec.) surviennent alors, contemporaines à la phase tonique ;

— progressivement des ondes lentes de plus en plus nombreuses s'intercalent entre les pointes elles-mêmes de plus en plus rares, tandis que s'installe la phase clonique ;

— enfin, l'on assiste à la phase d'extinction souvent brutale et brève suivie d'une longue période post-critique durable caractérisée par des ondes lentes.

Nous voyons ainsi que le schéma de la crise convulsive adulte revêt une forme définie où le parallélisme entre les modifications E.E.G. et les événements cliniques est stable.

Chez l'enfant, l'un et l'autre de ces points font défaut ; en particulier la première phase critique avec pointes rapides de grande amplitude est fréquemment absente, de plus, ces pointes sont de plus longue durée et de moins grande fréquence, et sont mêlées à des ondes lentes bien que la phase tonique soit souvent prédominante et même seule présente.

Au contraire de cette relative discrétion des pointes, les pointes-ondes et les ondes lentes de morphologie diverse sont très répandues.

La phase d'extinction fait également souvent défaut.

Notons, d'autre part, que la localisation des crises est souvent limitée aux régions antérieures ou postérieures d'un hémisphère, tandis que la généralisation et la propagation d'un hémisphère à l'autre sont parfois à peine esquissées ou même tout à fait inexistantes.

Cette absence de généralisation chez le jeune s'explique si l'on admet l'hypothèse du mécanisme de l'irradiation des crises telle qu'elle est proposée par quelques chercheurs ; le foyer d' « entraînement » serait une structure centrale (située probablement dans la formation réticulée mésencéphalique d'après Gastaut et Coll. [1957]), qui exciterait les noyaux non spécifiques du thalamus, eux-mêmes responsables de l'irradiaton corticale. On sait que les connexions interneuronales corticipètes sont en grande partie immatures à la naissance, et cette pauvreté relative en relais synaptiques devrait être responsable, au moins pour une grande part, du caractère souvent focal des crises convulsives chez le nourrisson.

L'ensemble de ce tableau a été retrouvé chez le jeune animal, en provoquant les crises expérimentalement soit par administration de convulsivants, soit par stimulation élective des centres sous-corticaux.

La plupart des travaux sur l'ontogénèse de l'effet des convulsivants sur l'E.E.G. ont été effectués sur le Chat. Ainsi, dès 1941, Libet, Fazekas et Himwich décrivaient trois étapes dans l'évolution des crises provoquées chez cet animal par l'injection intra-veineuse de strychnine et de pentétrazol :

— entre 2 et 6 jours, des bouffées sporadiques apparaissent durant environ 100 secondes, constituées d'ondes régulières de 9 à 12 c/sec., de faible amplitude (20 à 50 µV) se transformant, pour des doses de 1 à 2 mg, en ondes plus amples propagées en trains de pointes poly phasiques.

A cet âge, les manifestations motrices sont limitées à des mouvements lents et généralisés des membres et du tronc ;

— vers le 20^{e} jour, les doses de 1 à 2 mg de pentétrazol font apparaître des ondes lentes, et c'est seulement après l'administration d'au moins 4 mg que l'on peut observer l'apparition de pointes-ondes de basse fréquence ;

— au-delà du 25^{e} jour, des crises morphologiquement adultes surviennent pour des doses de 5 mg.

La comparaison des doses nécessaires pour obtenir des modifications du tracé, avec le poids corporel des animaux utilisés dénote une sensibilité beaucoup plus faible chez les animaux les plus jeunes.

Des expériences plus récentes conduites en cours de développement chez le Poulet (Garcia - Austt [1954] - Sharma et Coll. [1954]), chez le Rat (Gastaut et Coll. [1957] - Crain [1952]), et chez le Chat (Grossman [1954-1955] - Cadihac et Coll. [1960-1961]), conduisent aux conclusions suivantes.

Les crises expérimentales provoquées par l'injection intra-veineuse ou intra-péritonale d'agents convulsivants, par leur application locale ou par la création de lésions corticales à la suite d'injections sous-durales, d'alumine par exemple, entraînent l'apparition, suivant l'âge :

— d'une activation corticale sous forme de bouffées d'ondes lentes, arythmiques, focales avec parfois balancement d'un hémisphère à l'autre ;

— plus tardivement (au 10^{e} jour chez le Chaton) de crises bilatérales isolées constituées de pointes seules ou groupées avec des ondes lentes, synchrones, sur les régions homologues des deux hémisphères et précédant une extinction post-critique brutale ;

— puis de crises globales, organisées, constituées de pointes-ondes amples, rythmées à 2 - 3 c/sec. synchrones.

En outre, quelques travaux consacrés à l'étude des manifestations paroxystiques au niveau de formations centrales plus archaïques comme l'hippocampe, ont montré qu'il existait également une évolution des paramètres de leurs grapho-éléments au cours de l'âge. Ces études présentent un intérêt particulier si l'on sait que l'hippocampe est la structure dont le seuil aux décharges épileptiques est le plus bas (Liberson [1961]).

Suivant Cadilhac et Coll. (1960-1961), des stimulations répétitives de l'hippocampe provoquent, au sein de cette structure, des décharges de durée croissante dont la fréquence aug-

mente de 3 à 5 c/sec. jusqu'à 15 c/sec. dans les dix premiers jours de la vie post-natale chez le Chat :

— à la naissance, des stimulations de faible voltage suffisent à faire apparaître localement des crises organisées à basse fréquence (3 c/sec.) sans irradiation corticale ;

— après le 8e jour, ces décharges sont légèrement plus rapides et accompagnées dans quelques cas de brèves bouffées d'activités à 10 - 15 c/sec., associées à des décharges corticales irrégulières ;

— au 25e jour, comme chez l'animal adulte, les stimulations entraînent l'apparition de pointes rapides à 15 c/sec. en trains prolongés associés à des pointes de durée unitaire très brève organisées en fuseaux.

Des travaux actuellement en cours dans ce Laboratoire semblent déjà indiquer que le Lapin suit une évolution similaire.

A côté de ces phénomènes induits par stimulations électriques centrales, les mêmes auteurs ont montré que des injections intra-veineuses de pentétrazol n'étaient susceptibles de faire apparaître que tardivement (vers le 30e jour) une activité ample, lente et régulière à 2 - 3 c/sec. propre à l'ensemble des formations corticales et centrales.

Par ailleurs, comme il ressort des expériences entreprises par Guerrero - Figueroa et Coll. (1963), il semble que le complexe pointe-onde ne puisse être obtenu au niveau de l'hippocampe que sous l'effet de l' « irritation » de la formation réticulée mésencéphalique ou du thalamus. La formation réticulée provoquant elle-même l'irradiation corticale et hippocampique par l'intermédiaire du thalamus suivant la théorie de Jasper confirmée par les travaux de Ingvar (1955).

Au titre de conclusion à cette revue, quelques points importants nous semblent devoir être pris en considération.

Tout d'abord, les connaissances précises sur les mécanismes de mise en jeu des structures responsables des activités paroxystiques manquent encore à nos jours et les données relatives à leur apparition chez le jeune animal sont particulièrement restreintes.

Cependant, on peut d'ores et déjà compter comme établi le principe d'un enrichissement progressif des éléments paroxystiques accompagné d'une modification de certains de leurs paramètres, aboutissant à donner aux crises convulsives leur physionomie adulte. Les modalités de cette évolution restent cependant à définir pour un certain nombre d'espèces, en particulier le Lapin.

L'élévation relative du seuil d'action des convulsivants chez le jeune animal constitue à nos yeux un fait également important que nous nous proposons de reprendre ultérieurement plus en détail à l'occasion de l'exposé de nos résultats en pharmacodynamie.

CONCLUSION

L'apparition successive des modifications des caractéristiques électriques du cerveau immature est en relation étroite avec les changements anatomiques et histologiques qui les accompagnent.

En particulier, l'absence de la phase initiale positive des potentiels pendant les 8-9 premiers jours correspond vraisemblablement à la pauvreté du développement des dendrites basilaires des cellules pyramidales. Lorsque les connexions axo-dendritiques deviennent fonctionnelles, la latence de la phase positive diminue rapidement, parallèlement au déplacement de son foyer d'activité vers les couches corticales superficielles, suivant les migrations cellulaires centrifuges qui concourent à la construction progressive de la lamination corticale (Delhaye-Bouchaud [1964]). Notons à ce propos que les travaux récents de Berry et Rogers (1965), chez le Rat, viennent d'apporter à la connaissance de ce phénomène morphogénétique une précision remarquable.

La myélinisation du nerf optique, qui s'étend du 7^{e} au 18^{e} jour post-partum, s'opère à un rythme accéléré entre le 7^{e} et le 11^{e} jour. La fin de cette période coïncide avec la diminution rapide de la latence des potentiels évoqués visuels (Hunt et Goldring [1951]).

Il est également probable que l'enrichissement progressif des réponses paroxystiques soit en rapport avec la maturation des complexes axodendritiques, mais la compréhension des mécanismes de contrôle sous-cortical de ces activités nécessiterait une étude parallèle de leur évolution et spécialement du développement des connexions thalamo-corticales.

Cependant, l'évolution architecturale des structures centrales ne suffit pas à expliquer à elle seule la maturation des activités électriques.

Il semble, en particulier, que les phénomènes biochimiques qui sont en cause dans les changements de perméabilité de la barrière hémo-méningée soient en partie responsables de l'abaissement progressif du seuil de sensibilité aux agents convulsivants (Pylkko et Woodburry [1961]).

D'autre part, le S.N.C. du jeune mammifère ne paraît pas être à même de fournir des activités bio-électriques de grande fréquence pendant une longue durée ; il en est ainsi pour les activités paroxystiques dont l'élément de base, la pointe, conserve dans la période néo-natale une durée individuelle plus grande et une fréquence plus faible. L'enrichissement progressif de l'E.E.G. en éléments paroxystiques de grande fréquence suppose par conséquent une adaptation parallèle des possibilités énergétiques.

Nous avons vu sur ce point quelles sont les variations métaboliques qui ont lieu au cours de la maturation du tissu nerveux ; mais l'étude des modifications fondamentales des synapses centrales, comme les indiquent les changements qui interviennent dans les activités enzymatiques au niveau des structures profondes constituent une approche beaucoup plus intime de ces mécanismes.

Enfin, comme le suggèrent de nombreux travaux, ceux de De Salva et son école en particulier, les glandes surrénales et l'hypophyse exercent un contrôle sur l'activité bio-électrique du tissu nerveux (De Salva et Coll. [1958-1959]).

La maturation fonctionnelle des glandes endocrines vient donc s'ajouter à l'ensemble des facteurs qui président à l'évolution des caractères neurophysiologiques tout au long de l'ontogénèse, aussi ferons-nous dans le chapitre suivant une brève revue des travaux effectués sur ce thème.

ASPECT ENDOCRINOLOGIQUE

Nous avons noté dans l'énumération des facteurs influents sur la mise en jeu des systèmes enzymatiques l'interférence des hormones : le fonctionnement endocrinien et les processus de maturation ont effectivement de nombreux retentissements l'un sur l'autre, dans la mesure où les hormones jouent un rôle fondamental dans l'homéostasie de l'individu. Les recherches de ces dernières années, particulièrement celles de l'équipe de Jost, en France, ont montré le rôle de certaines hormones dans l'organogénèse ou la maturation fonctionnelle de divers organes.

Le principe de cette influence hormonale est par ailleurs parfaitement illustré par les effets tératogènes résultant des perturbations accidentelles ou expérimentales de l'équilibre endocrinien pendant la gestation (Tuchmann - Duplessis [1954] - Giroud [1955] - Kalter et Warkany [1959] - Wolff [1960] - Jost [1964]...).

Le système régulateur hypophysaire dépend étroitement des noyaux thalamiques et hypothalamiques ; les conditions d'environnement qui changent considérablement au moment de la naissance entraîneront les stimulations endocriniennes aux conséquences variables selon la sensibilité des centres supérieurs aux conditions extérieures et selon le degré de maturité des glandes endocrines.

Chez le Lapin, dès le 20^{e} jour de gestation, une ébauche de fonctionnement des sécrétions gonadotrophiques pituitaires induit la différenciation sexuelle masculine du fœtus (Jost [1948]) ; toutefois, l'ensemble du système endocrinien ne parvient à maturité que beaucoup plus tard.

L'hormone anti-diurétique est secrétée en quantités inférieures par rapport à l'animal adulte chez le nouveau-né.

De même, différentes agressions n'entraînent une sécrétion d'ACTH que plusieurs jours après la naissance : l'injection d'Adrénaline est sans effet jusqu'au 8^{e} jour, comme un refroidissement brutal, jusqu'au 16^{e} jour, chez le Rat (Jost [1953] - Harris [1955]). Le cortex surrénal présente d'ailleurs lui-même les caractères d'un développement incomplet pendant la première semaine, comme le démontre la supériorité des quantités de corticostérone et d'aldostérone produites chez le Rat adulte (Kemeny et Coll. [1964]).

L'immaturité du système endocrinien des animaux nouveau-nés entraîne des modifications dans l'activité de certains agents : l'action hypocholestérolémiante des œstrogènes est nulle jusqu'au 30^{e} jour chez le Rat, exactement comme chez l'animal adulte hypophysectomisé (Uchida et Coll. [1965]).

Le développement de nos connaissances sur l'interférence de l'hormone thyroïdienne avec le processus de maturation du S N C a permis de définir, parfois avec précision, le point d'impact de cette substance humorale sur différentes étapes de la différenciation.

Un ensemble de travaux effectués par l'équipe de Jost identifient au 18^{e} jour de gestation le début du fonctionnement thyroïdien chez le Rat (Geloso [1961]).

Pendant la gestation, l'accroissement pondéral et l'ossification ne semblent pas être affectés par l'administration d'antithyroïdiens à la mère. Après la naissance, l'inhibition de la sécrétion thyroïdienne de l'animal nouveau-né entraîne un retard de maturation ; au contraire, des surcharges en thyroxine peuvent accélérer le processus. Ainsi, l'hypothyroïdisme expérimental chez le Rat provoque une réduction des péricaryons et une augmentation de la densité cellulaire du cortex, par inhibition de la croissance des éléments extra-cellulaires ; il diminue le nombre des vaisseaux et par là même la surface des échanges hémato-tissulaires, retarde la myélinisation, ralentit la prolifération dendritique, particulièrement dans la couche granulaire interne (Eayrs [1955]).

Egalement chez le Rat, les migrations cellulaires qui entraînent le déplacement centripète de la zone granulaire externe du cervelet, normalement achevées vers le 21^{e} jour, sont retardées au-delà du 26^{e} jour, par l'administration de propylthiouracile (Hamburg [1964]).

L'incidence histologique de la thyroxine n'est pas unique, son action peut entraîner des modifications dans l'évolution biochimique ou comportementale des animaux en cours de dé-

veloppement. Des injections répétées de thyroxine élèvent au-dessus du niveau normal la consommation en oxygène de coupes de cortex, et ceci exclusivement pendant la première semaine (Hamburg [1964]).

L'accumulation de fractions lipidiques qui a lieu pendant les périodes fœtale et néonatale est également perturbée lors d'une déficience thyroïdienne chez les Lapereaux dont la mère reçoit du méthyl-thiouracile ; le dépôt des phospho-lipides cérébraux est légèrement diminué pendant la période post-natale, mais l'incorporation de P dans la fraction phospholipidique est nettement affectée (Cuaron et Coll. [1963]).

Enfin, de nombreuses expériences de conditionnement de jeunes animaux ont révélé leur inaptitude à l'apprentissage dans le cas où leur fonction thyroïdienne était entravée. L'activité électrique elle-même du S N C peut être modifiée : la thyroïdectomie entraîne la diminution de l'amplitude et le ralentissement de l'électrocorticogramme du Rat, l'allongement de la latence et de la durée des potentiels évoqués ; la susceptibilité et la durée des crises convulsives provoquées sont également augmentées par administration de thyroxine, ou diminuées par thyroïdectomie (rapporté par Campbell et Eayrs [1965]), ou par hypophysectomie (De Salva et Coll. [1958]).

Harris (1955-1964) s'est particulièrement attaché à définir l'influence de facteurs endocriniens et de la maturation du S N C sur l'évolution des gonades et sur le développement des caractères sexuels chez les jeunes animaux. De nombreux auteurs ont fait le rapprochement entre le degré de maturité intellectuelle des enfants et leurs taux de secrétions surrénaliennes d'origine médullaire (Weil Malherbe [1955]), ou corticale (Reiss [1955]).

Il est certain que de telles comparaisons mettent en lumière la correspondance d'états psychiques avec des insuffisances glandulaires.

CONCLUSION

Cette revue rapide démontre l'influence des systèmes glandulaires sur la maturation du S N C. Certains des effets observés relèvent uniquement de phénomènes métaboliques affectant le développement anatomique des centres nerveux ; ces effets sont donc indirects et sont le résultat d'une stimulation ou d'une inhibition de la synthèse protéique à travers les ARN messagers comme nous avons eu l'occasion de le dire à propos du mode d'action de l'actinomycine.

ASPECT COMPORTEMENTAL

La conjonction de l'ensemble des facteurs dont nous venons d'exposer l'évolution dans la période post-natale contribue à l'acquisition progressive des caractères comportementaux de l'animal adulte.

Il s'avère que l'enrichissement de la variété des attitudes comportementales procède par étapes successives dont le découpage, pour arbitraire qu'il soit, épouse sensiblement le rythme de maturation des activités fonctionnelles nerveuses.

A notre connaissance, aucune étude approfondie des modalités de l'ontogénèse, vue sous cet angle, n'a été effectuée chez le Lapin, si l'on excepte les descriptions succinctes des possibilités locomotrices du Lapereau publiées par Himwich (1962) et Malakhovskaya (1963). Toutefois, l'on peut, dans une certaine mesure, extrapoler au Lapin les travaux consacrés à la définition de cette évolution chez d'autres rongeurs. Ceux-ci ont en effet été l'objet d'observations détaillées sur l'acquisition des réflexes et sur l'adaptation du comportement social, en particulier chez la Souris (Williams et Scott [1952] - Fox [1965 b]) et chez le Rat (Bolles et Wood [1964]). Ces auteurs s'accordent à reconnaître cinq périodes sensiblement distinctes au cours desquelles les animaux présentent successivement des réflexes primitifs rudimentaires, une amélioration dans l'élaboration de ces premiers mouvements, leur remplacement progressif par les activités locomotrices du type adulte dont le perfectionnement est particulièrement rapide jusqu'au 25 - 26e jour, au-delà duquel l'ensemble des caractères comportementaux est sensiblement comparable à celui de l'adulte.

Il est à noter que l'extension de ce genre d'études à d'autres espèces, et à l'Homme en particulier, tendent à montrer une relation entre le degré d'immaturité des nouveau-nés et l'élévation de l'animal dans l'échelle phylogénétique: ainsi, les primates présentent-ils une très longue période post-natale durant laquelle leur dépendance maternelle est totale (Fox [1964]). Cette constatation rejoint d'ailleurs les relations similaires qui ont été établies entre la phylogénèse et le degré d'immaturité anatomique ou fonctionnelle de jeunes animaux.

D'autre part, l'étude simultanée d'un grand nombre de réflexes dans la période post-natale permet d'identifier d'éventuelles anomalies neurologiques ; ainsi, les retards d'apparition de certains réflexes ont-ils permis de détecter plus ou moins tardivement des anomalies vestibulaires, cérébelleuses ou cérébrales chez des Souriceaux appartenant à des souches de mutants (Fox [1965 a]).

Quelques tentatives ont également été faites dans le domaine de la psychophysiologie, notamment en ce qui concerne l'incidence de traitements divers dans la période néo-natale sur les performances ultérieures lors d'épreuves de conditionnement (Henderson [1963-1964] - Schwartz [1964] - Young [1964]). Il semble toutefois que ces techniques soient difficilement applicables au jeune Lapin en raison de la faiblesse de ses capacités d'apprentissage (Obraztsova [1958]).

En conclusion, ce domaine de l'ontogénèse reste pratiquement inexploré chez le Lapin, l'on peut voir cependant l'intérêt que pourraient présenter des observations systématiques et codifiées comme celles de Fox, dans la mesure où le comportement de l'animal peut être considéré comme la résultante d'une synthèse générale de tous les mécanismes biologiques intéressant en particulier le système nerveux.

CONCLUSIONS

Pendant la gestation, l'immaturité du fœtus est compensée par les apports maternels. A la parturition, l'adaptation post-natale est déclenchée par le puissant stimulus de la naissance et entretenue par une succession de stimuli biochimiques et physiques qui affectent les activités enzymatiques soit directement, soit indirectement : les effets directs sont produits par l'entrée dans les chaînes métaboliques de substances nouvelles, par le changement de l'apport en oxygène, par l'apparition d'antigènes, etc... ; les effets indirects résultent essentiellement de l'interférence des hormones.

Les chapitres qui précèdent mettent en évidence la nécessité impérative d'une corrélation totale entre l'évolution des phénomènes de multiplication et de différenciation cellulaire, la mise en jeu de systèmes métaboliques efficients et leur régulation par des facteurs hormonaux, afin d'obtenir un individu adulte présentant toutes les caractéristiques fonctionnelles de la maturité.

L'étude simultanée des trois aspects morphologique, biochimique et fonctionnel de la neuro-ontogénèse comme elle a été faite par Flexner (1955), puis par de nombreux auteurs après lui, illustre parfaitement l'existence de périodes critiques.

Le tableau que nous venons de dresser permet de discerner, chez le Lapin, deux âges, les 10^{e} et 15^{e} jours, particulièrement intéressants,où des événements capitaux concourent à établir une définition totalement différente de son état physiologique.

La définition précise des niveaux d'activité et de la morphologie de plusieurs phénomènes relevant de ces trois aspects, nous permettra dans les chapitres suivants d'établir des comparaisons entre les degrés de maturation de deux groupes d'animaux constitués, d'une part, de Lapins nouveau-nés témoins, d'autre part, de Lapereaux issus de femelles traitées à l'actinomycine.

TECHNIQUES ET MATERIEL

TECHNIQUES

SUJETS D'EXPERIENCE

ELEVAGE

Nous avons utilisé des Lapins de race commune, jeunes, d'un poids moyen compris entre 2 et 2,5 kg.

Afin de déterminer le début de la gestation avec suffisamment de précision, nous avons systématiquement assisté aux accouplements. Ceux-ci étaient réalisés le matin et la fécondation était considérée comme effective lorsque nous avions constaté trois coïts. La femelle était alors laissée en présence du mâle pendant 12 à 24 heures, puis installée dans une cage individuelle pendant toute la durée de la gestation.

L'alimentation était constituée de comprimés pour l'élevage (U.A.R. réf. n° 11) mélangés de son, avec un complément naturel de verdure (feuilles de choux et betteraves) trois fois par semaine. Ces aliments et l'eau de boisson étaient fournis « ad libitum ».

La fin de la gestation était soigneusement surveillée afin de déterminer la date précise de la parturition ; celle-ci est survenue, dans la majorité des cas, au 31^{e} jour, dans les premières heures de la matinée (entre 5 et 9 heures).

Les animaux nouveau-nés qui ont fait l'objet d'une expérimentation électrophysiologique, biochimique ou pharmacologique, étaient enlevés à leur mère au début de l'après-midi. De ce fait, l'âge des animaux dont nous exposons les résultats d'expérimentation, est défini comme il suit : un Lapin du 1er jour est âgé de 0 à 24 heures ; étant donné que nos expériences se situent dans l'après-midi, nous considérons qu'un Lapin du 1er jour est âgé de 12 heures, du 2^{e}, 3^{e}... nème jour, de n jours moins 12 heures.

PREPARATION EN VUE DE L'EXPERIMENTATION ELECTROPHYSIOLOGIQUE

Nous avons recueilli les activités électrocorticographiques de nos animaux sur deux types de montages ; l'un « aigu », impliquant le sacrifice de l'animal en fin d'expérimentation ; l'autre, « chronique », permettant d'épargner la vie de l'animal et par conséquent de suivre son électro-ontogénèse sur une période allant d'une à deux semaines.

— montage aigu

préparation de l'animal

Nous avons employé la méthode décrite par Laget et Delhaye (1962). Après pesée de l'animal, une trachéotomie était pratiquée sous anesthésie à l'éther, une canule de plexiglass aux dimensions correspondantes au diamètre de la trachée était posée, puis l'animal recevait une injection intra-péritonéale de triiodoéthylate de tri-(diéthylamino-2'éthoxy) 1-2-3-benzène (Fladexil Specia) en solution à 20 mg/ml à raison de 20 mg/kg.

Dès la curarisation obtenue, l'animal était immédiatement placé sous respiration artificielle, le volume et le rythme respiratoires étant réglés aussi près que possible des conditions de respiration spontanée afin d'assurer une ventilation normale.

Pour maintenir la constance de sa température interne, l'animal était partiellement immergé dans un bain d'eau à 38 - 39° C.

Enfin la tête de l'animal était immobilisée dans un appareil de Horsley Clarke pour Rat, adapté au Lapin suivant les modifications apportées par les auteurs de la technique. La peau du crâne était incisée longitudinalement et réclinée de part et d'autre, les surfaces osseuses délicatement ruginées.

A l'aide d'un trépan, la voûte crânienne était ensuite percée de 11 trous disposés de façon constante (fig. 7) destinés à recevoir : 1 électrode indifférente. 8 électrodes pour l'enregis-

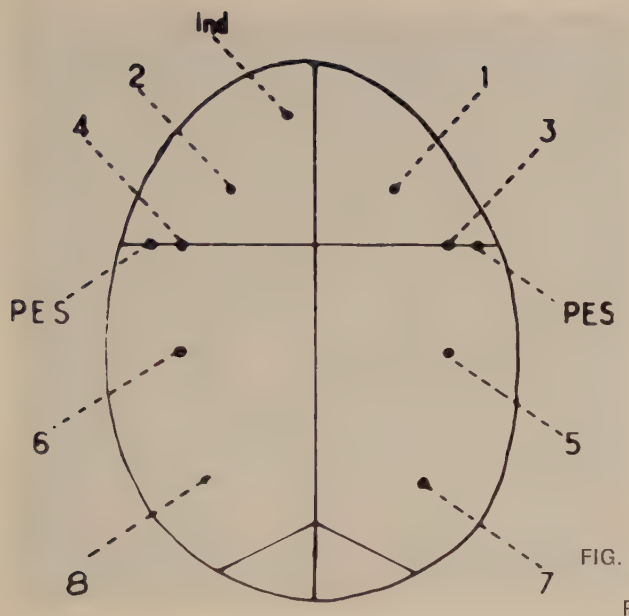


FIG. 7. — Schéma d'implantation des électrodes
ind : indifférente
PES : réception des potentiels évoqués somesthésiques.

trement de l'électrocorticogramme (n° 1 à 8), 2 électrodes pour l'enregistrement des potentiels évoqués somesthésiques.

description et implantation des électrodes

Nous avons utilisé des électrodes de surface, constituées d'un fil d'argent de 3/10 mm, dont une extrémité était arrondie à la flamme, de manière à obtenir une boule d'un diamètre de 5 à 6/10 mm, puis chlorurée par électrolyse.

L'extrémité ainsi préparée était posée en contact de la duremère, sans léser cette dernière, après introduction dans les orifices pratiqués dans la voûte crânienne ; puis le scellement était assuré par un ciment plastique à prise rapide.

L'efficacité de ce scellement était conditionnée par l'absence totale de points hémorragiques ; nous disposions de poudre de thrombine (Thrombase Roussel) pour accélérer éventuellement la coagulation.

Enfin, deux électrodes supplémentaires, plantées l'une dans la queue, l'autre dans l'oreille permettaient de recueillir l'électro-cardiogramme de l'animal.

— **montage chronique**

préparation de l'animal

Nous avons employé la méthode décrite par Majoie et Laget (1964). L'intervention chirurgicale réside cette fois dans la seule pose des électrodes.

Nous avons eu à résoudre diverses difficultés, et la première portait sur l'anesthésie. Les premiers essais effectués avec les barbituriques, successivement éthyl-méthyl-butyl-barbiturate de sodium (Nembutal Abbott) et méthyl-allyl-(1 méthyl-2 pentynyl) barbiturate de sodium (Brevane pour usage vétérinaire - Corn States Labs) ont confirmé la grande susceptibilité des jeunes animaux à leur toxicité. Aux doses suffisantes pour obtenir une anesthésie complète pendant 15 à 20 minutes (20 à 30 mg/kg), 45 % des animaux succombaient à un arrêt respiratoire.

L'emploi de doses plus faibles de ces barbituriques (10 mg/kg), conjointement à l'usage local de procaïne s'est avéré inapplicable du fait de la potentialisation de leur toxicité qui entraînait systématiquement un arrêt cardio-respiratoire.

C'est pourquoi nous avons été amené à utiliser l'antique méthode ouverte, ou goutte à goutte, consistant à instiller de l'éther sur un tampon d'ouate maintenu dans un masque à proximité du museau de l'animal.

FIG. 8. — Opération d'un Lapereau « chronique ». Vue générale de l'installation.

Dans ces conditions, nous n'avons, en aucun cas, constaté de mortalité imputable aux suites opératoires.

L'animal endormi était placé sur une table de contention spécialement conçue à l'usage des petits animaux (fig. 8) ; la préparation du crâne était effectuée suivant la même méthode que précédemment en utilisant des instruments préalablement stérilisés et en opérant dans des conditions d'asepsie les plus rigoureuses possibles.

Pendant la durée de l'intervention, une lampe à rayonnement infra-rouge placée à proximité de l'animal permettait d'éviter son refroidissement.

description et implantation des électrodes

La seconde difficulté résidait dans le choix des électrodes ; celles-ci devaient en effet réunir des qualités de conductivité et de résistance mécanique afin d'obtenir des enregistrements satisfaisants, et ceci pendant une période la plus longue possible.

Dans un premier temps, ces conditions ont été satisfaites en recourant à l'emploi de fil d'argent émaillé. Après avoir décapé localement l'émail par grattage, l'extrémité de contact était préparée suivant le même principe que pour la technique aiguë.

L'identité des électrodes définie par la topographie de leur implantation, était reconnue d'une part en réunissant les fils concernant un même hémisphère par une bague de couleur, d'autre part en utilisant des électrodes de longueur décroissante de la région frontale à la région occipitale.

Mais nous avons pu prolonger considérablement la durée de conservation de nos montages en substituant à ces fils d'argent émaillés l'assemblage suivant : la tête de l'électrode, destinée à être en contact avec la dure mère, constituée d'un fil d'argent de 2/10 mm, à l'extrémité arrondie et chlorurée, était rendue solidaire, par un point de soudure, d'un fil à 8 brins de cuivre gainé de plastique (fig. 9).

La bonne qualité des enregistrements obtenus par ce procédé était compatible avec ses avantages multiples : la corrosion par l'exsudation des tissus cicatriciels, cause majeure de la perte des électrodes primitivement décrites ne s'exerce pas sur le plastique, le choix de gaines diversement colorées permet aisément le repérage des électrodes, enfin la souplesse du matériau facilite son emploi.

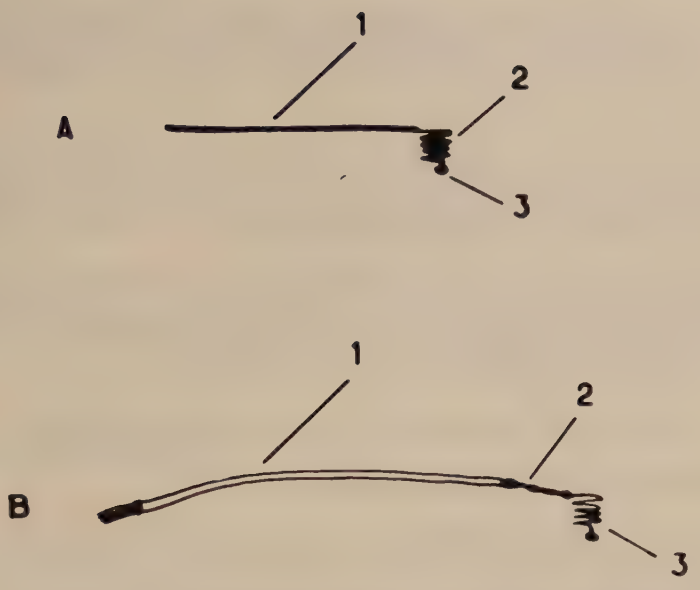


FIG. 9. — Electrodes destinées aux montages chroniques.
A : fil d'argent :
1. partie émaillée
2. spires
3. sphère de contact.
B : fil souple :
1. fil de cuivre
2. soudure au fil d'argent
3. spires et sphère de contact.

Pour les montages chroniques, nous n'avons employé que 8 électrodes, l'expérience ayant montré qu'il était impossible d'obtenir des réponses somesthésiques convenables au moyen d'une stimulation de la branche faciale du trijumeau. Le schéma d'implantantion (fig. 7) reste donc valable si l'on excepte les électrodes : indifférente et « potentiel évoqué somesthésique » droite et gauche.

Afin d'assurer un maximum d'efficacité au scellement, la surface portant sur l'os crânien était augmentée par l'enroulement de l'électrode sur une ou deux spires qui permettaient une meilleure prise du ciment. Au cours de cette opération, nous avons veillé à respecter les sutures longitudinale et bregmatique afin de laisser libre la croissance ultérieure des os du crâne.

Dans un dernier temps, la peau du crâne était suturée au fil de soie fin (N° 00 Bruneau) stérile, en ménageant une boutonnière étroite à la base de la nuque pour le passage des électrodes.

Ces différentes phases opératoires terminées, l'anesthésie était arrêtée et l'animal placé dans une enceinte chaude, sous le rayonnement infra-rouge, jusqu'à son réveil complet. Dans l'ensemble, cette période de récupération durait 10 à 20 minutes.

protection du montage

Le retour de l'animal ainsi opéré dans le nid maternel présentait un certain nombre de difficultés.

D'une façon générale, et quasi-systématique, la Lapine effectuait une reconnaissance tactile et olfactive de son Lapereau et la détection des électrodes l'incitait à abandonner le jeune animal ou, le plus souvent, à détruire le montage, voire à dévorer son descendant.

Nous sommes parvenu à éliminer cet écueil dans près de 100 % des cas en utilisant le subterfuge suivant : après avoir lové les électrodes sur le dos de l'animal, le rouleau ainsi constitué était recouvert d'un adhésif « double face » (Plasto D.F. 30, Sté S.A.P.E.), dont la face libre était préalablement tapissée de poil maternel (cf. Fig. 17, page 60).

Si elle était effectivement perçue par la mère, la présence de ce « manteau » de protection ne suscitait aucun trouble, étant donné son aspect naturel.

Sur un autre plan, nous avons efficacement réduit les risques d'infection opératoires et post-opératoires, en administrant systématiquement 10.000 U. I. par 100 g. de pénicilline (Spécilline G Specia) par voie intra-péritonéale le jour même de l'intervention ainsi que les 3 jours suivants.

Nous avons pu constater, en conservant certains animaux pendant plusieurs mois, que la mise en place des électrodes et la présence de ciment sur la voûte crânienne dans les premiers jours de la vie post-natale, n'entravaient aucunement la croissance osseuse.

Les animaux qui ont fait l'objet de ces interventions appartenaient à deux groupes : l'un témoin, l'autre constitué de Lapereaux dits « actinomycinés », dont les mères avaient reçu des injections d'actinomycine D pendant leur gestation. Nous avons consacré le chapitre suivant à l'exposé des modalités d'administration de ce produit.

TECHNIQUE D'EMPLOI DE L'ACTINOMYCINE

PREPARATION ET CONSERVATION DES SOLUTIONS

Nous avons employé de l'actinomycine D Specia mise à notre disposition par l'Assistance Publique, ainsi que de l'actinomycine D Merck gracieusement offerte par les Laboratoires Merck Sharp et Dohme (Paris), l'une et l'autre étaient lyophylisées.

Les solutions injectables étaient préparées par dissolution dans de l'eau distillée à raison de 50 µg/ml. Celles-ci étaient conservées en chambre froide à + 4° C pendant une durée maximum de 8 jours.

Nous avons opéré des contrôles de stabilité et de pureté par chromatographie sur papier suivant la technique de Gregory, Vining et Waksman (1955).

Le bien fondé de notre utilisation s'est vu confirmé à la lecture ultérieure des travaux de Crevar et Slotnick (1964) concernant l'étude de la stabilité de solutions d'actinomycine en fonction du temps, du pH, et de la température. D'après ces auteurs, les meilleures conditions de conservation sont assurées à un pH compris entre 5 et 7 pour un stockage à + 5° C pendant un maximum de 120 jours.

PRATIQUE DES INJECTIONS

Conformément aux indications qui se dégagent de notre exposé concernant d'une part les modalités de l'action de l'actinomycine D, d'autre part les données embryologiques du développement du Lapin, nous avons choisi de pratiquer les injections tératogènes au moment où :

1. l'actinomycine était susceptible de franchir le plus aisément la barrière placentaire ;
2. le système nerveux de l'embryon se différenciait.

C'est-à-dire entre le 7e et le 11e jour de la gestation, période pendant laquelle le placenta est de type histotrophique, tandis que l'embryon effectue sa neurulation.

Cette période recouvre les dates d'injection pour lesquelles Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot ont eux-mêmes obtenu le plus fort pourcentage de malformations. Comme ces auteurs, nous avons injecté l'actinomycine par voie intra-péritonéale.

Notre but était de mettre en évidence l'existence d'éventuelles anomalies décelables par les méthodes électro-physiologique, biochimique ou pharmacologique, chez des animaux ne présentant pas de malformation morphologique visible.

Nous avons donc cherché, dans un premier temps, la dose d'actinomycine répondant à cet objectif, puis, comme dans toute expérimentation pharmacologique, nous avons « encadré » cette dose par des valeurs inférieures et supérieures.

C'est ce qui explique la diversité des doses que nous avons employées.

Nous verrons dans la partie consacrée à l'exposé de nos résultats la répartition numérique des cas étudiés. Dans une partie de ces cas, 5 injections d'actinomycine ont été faites aux 7-8-9-10 et 11e jours de la gestation, à raison de 20, 25, 30, 35 ou 40 µg/kg et par jour, dans une autre partie une seule injection a été faite au 9e jour à raison de 40, 50, 60 ou 80 µg/kg.

Afin de faciliter la lecture de ce texte, nous avons préféré joindre à l'exposé des techniques biochimiques et pharmacologiques appliquées aux Lapereaux, à l'énoncé des résultats correspondants.

MATERIEL

APPAREILLAGE ELECTROPHYSIOLOGIQUE

STIMULATIONS SOMESTHESIQUES

Les potentiels évoqués somesthésiques ont été obtenus suivant la méthode de Laget et Delhaye (1962) en stimulant électriquement la branche sous orbitaire du trijumeau.

Une aiguille coaxiale était plantée dans la peau du museau au voisinage de l'aplomb de la commissure des lèvres. Les stimuli consistaient en chocs rectangulaires de courte durée (0,3 à 0,7 msec.), de quelques volts, délivrés par un stimulateur conventionnel muni d'une unité d'isolement à haute fréquence.

Seuls les montages aigus se sont prêtés à cette expérimentation.

STIMULATIONS VISUELLES

Les potentiels évoqués visuels ont été obtenus par stimulation lumineuse de la rétine.

Avant l'ouverture spontanée des paupières (9^{e} jour), la fente palpébrale était pratiquée au scalpel (sur les animaux en montage aigu), ce qui nous a permis de recueillir quelques réponses visuelles à partir du 7^{e} jour.

Les éclairs lumineux étaient délivrés par un flash électronique muni d'un dispositif de synchronisation avec les appareils d'enregistrement.

Nous avons utilisé pour la réception de cette réponse évoquée les électrodes occipitales 7 et 8 du montage habituel, situées dans l'aire primaire de projection du tractus visuel.

ENREGISTREMENTS GRAPHIQUES

L'électrocorticogramme et éventuellement l'électrocardiogramme (montages aigus) étaient enregistrés au moyen d'un appareil standard à 8 dérivations.

Pour les animaux porteurs de montages chroniques, après avoir libéré les électrodes de leur « manteau » protecteur, le raccordement à l'électroencéphalographe était réalisé en soudant, pour la durée de l'enregistrement, les extrémités libres des électrodes aux brins d'un prolongateur souple.

Les réponses corticales évoquées étaient amplifiées par un dispositif conventionnel et envoyées sur un oscillographe cathodique à double faisceau, muni d'un dispositif photographique.

Les étalonnages de temps et d'amplitude étaient effectués pour chaque expérience.

L'appareillage utilisé dans les autres types d'expérimentation sera décrit comme les techniques, au moment de l'exposé des résultats.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

INTRODUCTION

L'ensemble de ce travail a porté sur près de 600 Lapereaux âgés de 1 à 21 jours. Dans cet ensemble, le groupe des « actinomycinés » est représenté par 350 animaux issus de 57 portées.

Les différentes doses d'actinomycine que nous avons injectées pendant la gestation ont été réparties sur ces 57 cas dans les proportions indiquées par le tableau I.

Pour chaque portée, l'expérimentation a consisté :

— du point de vue morphologique macroscopique, à noter les éventuels avortements, le nombre d'animaux nés à terme vivants et morts, à sélectionner les sujets présentant des malformations visibles, à surveiller la date d'ouverture des yeux ainsi que l'évolution de diverses données staturo-pondérales ;

— du point de vue électro-ontogénétique à étudier l'évolution des activités corticales spontanées et évoquées, somesthésiques ou visuelles ;

— du point de vue biochimique à étudier le métabolisme du tryptophane en pratiquant des chromatographies systématiques des dérivés indoliques urinaires, ainsi que les activités plasmatiques et cérébrales de transamination ;

— du point de vue pharmacologique, à déterminer les variations en fonction de l'âge de la dose convulsivante seuil du pentétrazol.

Dans chacune de ces voies de recherche nous avons procédé à la détermination préalable des constantes chez le Lapereau témoin, afin d'établir, en second lieu, les différences éventuelles présentées par les Lapereaux traités.

TABLEAU I

Répartition des doses d'actinomycine employées sur l'ensemble des gestations.

Groupe	Dose µg/kg/j	Nombre de portées	Total
	Administration du 7e au 11e jour		
A	20	4	
B	25	5	
C	30	19	
D	35	6	
E	40	5	39
	Administration au 9e jour		
F	40	4	
G	50	4	
H	60	8	
I	80	2	15
			57

RESULTATS DE L'EXAMEN MORPHOLOGIQUE

Etant donné la nécessité où nous nous trouvions de conserver nos animaux vivants, il n'était pas possible d'effectuer les laparotomies indispensables à la détermination des résorptions fœtales éventuelles.

Nous avons considéré comme avortées toutes les gestations pour lesquelles nous avons pu objectiver avec certitude la disparition des fœtus avant terme. Dans quelques cas, nous avons pu assister à l'avortement proprement dit, en cette occurrence, nous avons pratiqué un examen macroscopique des fœtus, à la recherche d'une malformation éventuelle.

Pour chaque parturition, nous avons dénombré les animaux nouveau-nés par portée, et ce nombre nous a permis, par comparaison avec les données statistiques (Spector [1956]), d'évaluer, en approximation seulement, d'éventuelles réductions de l'importance des portées. Il est généralement admis que les portées normales comprennent 4 à 12 Lapereaux avec une moyenne statistique de 8.

Ne disposant pas d'éléments de comparaison suffisamment nombreux, nous avons simplement noté le nombre d'animaux mort-nés dans chaque groupe ; ce nombre étant vraisemblablement entaché d'erreur si l'on sait que la Lapine dévore parfois une partie de sa progéniture, particulièrement lorsqu'elle comprend des individus morts.

En ce qui concerne les malformations, nous n'avons personnellement pas rencontré de malformations spontanées dans le groupe des témoins ; nous citerons cependant, en référence, l'article de Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot (1964) suivant lequel de telles malformations surviendraient chez 1,7 % des Lapereaux. Nous ne manquerons pas de faire quelques réserves sur le cas particulier des hydrocéphalies, étant donné le caractère endémique possible de cette anomalie. Nous avons d'ailleurs constaté l'apparition systématique d'hydrocéphalies prononcées dans une population d'animaux élevés dans un des laboratoires de notre établissement.

Afin de compléter ces éléments qui nous ont permis de dénombrer les anomalies les plus graves, nous avons établi, à titre de comparaison, les variations du poids corporel et du poids du cerveau chez les animaux témoins.

Une telle étude soumise à l'analyse statistique montre que les différences individuelles sont très grandes. En ce qui concerne le poids corporel (fig. 10), le calcul des écarts types indique la faible probabilité avec laquelle il est permis de définir un retard dans la croissance pondérale ; ainsi, le poids de 150 g. peut correspondre à des individus normaux de 6 à 10 jours.

Au contraire, la détermination des variations du poids cérébral total (fig. 11) apporte un élément de comparaison plus valable, les écarts d'un jour à l'autre étant suffisamment grands pour être caractéristiques d'un âge à 24 heures près.

Dans chacun des groupes A B C..., distincts par les doses d'actinomycine employées — Tableau I — nous avons relevé les anomalies présentées et nous les avons rassemblées en tableaux récapitulatifs.

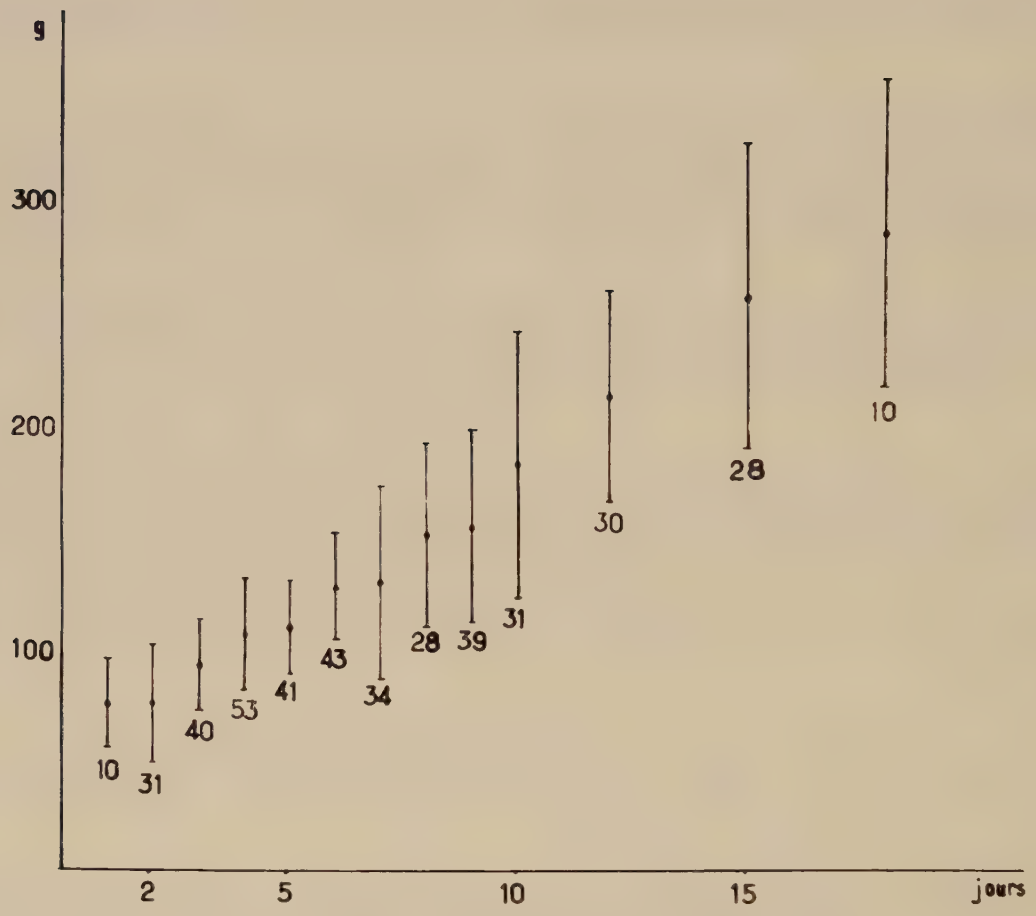


FIG. 10. — Croissance pondérale corporelle du jeune Lapin. Chaque point représente la moyenne algébrique des poids observés ; les écarts types sont figurés par les droites verticales ; les chiffres représentent le nombre d'animaux qui ont servi à leur détermination.

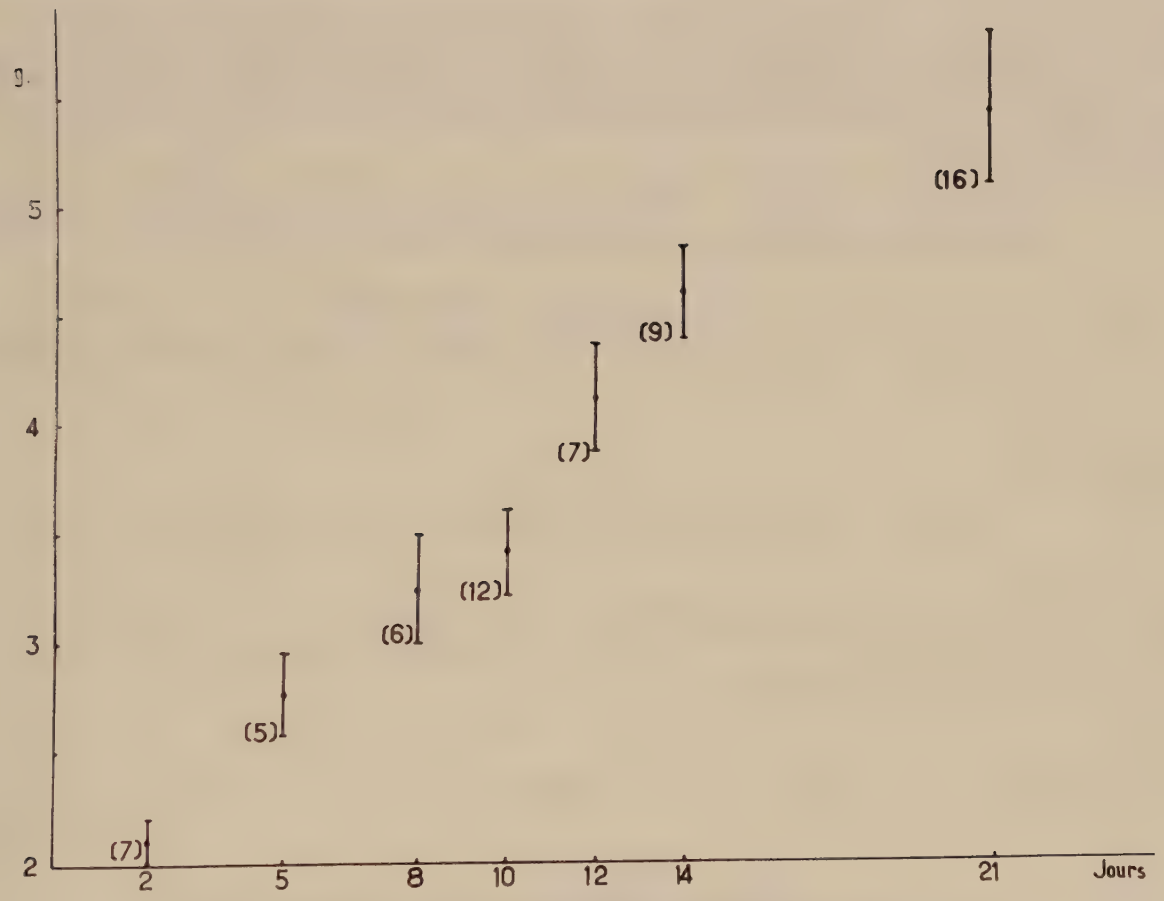


FIG. 11. — Croissance pondérale du cerveau du Lapin.
Chaque point représente la moyenne algébrique des poids observés; les écarts types sont figurés par les droites verticales ; les chiffres représentent le nombre d'animaux qui ont servi à leur détermination.

GROUPE A (20 µg/kg/j. pendant 5 jours) — TABLEAU II

Une des gestations de ce groupe a été perturbée (2698)[1] et s'est terminée par un avortement au 25e jour. Deux fœtus trouvés dans la cage de l'animal présentaient toutes les apparences normales.

Dans chacune des autres portées, le nombre d'animaux nouveau-nés correspondait à la moyenne habituelle ; un Lapereau était mort-né dans deux d'entre elles. Aucune malformation morphologique n'a été constatée.

Au cours du développement post-natal, nous avons noté :

— un retard de l'ouverture des yeux, survenue au 11e jour, dans la totalité de l'une des portées (2614 - 1) ;

— une réduction importante du poids du cerveau chez un animal (MAc 46 - 2906 - 1) : 2,750 g. au 9e jour, soit l'équivalent d'un animal de 2 à 3 jours plus jeune ;

— un retard de l'ossification des os du crâne sur l'ensemble d'une autre portée (2951) où les animaux présentaient une zone membraneuse large persistante dans la région bregmatique au-delà du 10e jour.

TABLEAU II

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe A.

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
2614.1	—	13	1	—	—	—	—	+
2698	(25e j)							
2906.1	—	6	1	—	—	1	—	—
2951	—	7	—	—	—	—	+	—

Avort. : avortements.

Nb. Anx. : nombre d'animaux contenus dans chaque portée.

ossif. : ossification des os du crâne.

ouv. yeux : ouverture des fentes palpébrales.

GROUPE B (25 µg/kg/j. pendant 5 jours) — TABLEAU III

TABLEAU III

Résumé des observations morphologiques concernant de Groupe B

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
4507.2	—	9	—	—	—	—	—	—
2615.2	(22e j)							
2827.1	—	4	—	(hydroc.)	1	—	—	—
2944	—	9	1	—	5	2	—	—
3067	—	8	—	—	—	—	—	—

(1) Les chiffres représentent : le numéro de l'animal : MAc 46 = Majoie « actinomycinés » 46 ; — Ch : chronique ; — le matricule de la mère : 2906 ; — l'ordre de la portée: 1 = première gestation.

Un cas d'avortement a été observé (2615 - 2) au 22e jour de l'une des gestations, la destruction des fœtus par la mère ne nous a pas permis de vérifier leur morphologie.

Une seule portée comprenait un animal mort-né.

Dans un cas, nous avons constaté une réduction relative du nombre de nouveau-nés (2827 - 1), mais en l'absence de traitement, une gestation précédente chez le même animal avait donné lieu à la naissance du même nombre d'animaux.

Un seul animal (MAc 57) issu de la même portée (2827-1) était atteint d'une malformation : nous avons en effet détecté une hydrocéphalie importante (voir à ce propos la remarque p. 51).

En plus de cette malformation, l'animal présentait une augmentation du poids de son cerveau (4,950 g. au 11e jour) consécutive à l'hydrocéphalie, ainsi qu'un retard important de son développement staturo-pondéral (110 g. au 11e jour, soit le poids moyen d'un animal du 7e jour).

Sur le plan staturo-pondéral, nous avons en outre constaté un abaissement du poids corporel et cérébral chez la plupart des animaux de l'une des portées (2944) représentant approximativement un retard de 2 à 3 jours.

GROUPE C (30 µg/kg/j. pendant 5 jours) — TABLEAUX IV et IV bis.

TABLEAU IV

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe C

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
4400	—	6	2	—	—	—	—	—
4100	—	7	—	1 «pied bot»	—	—	+	+
2659	—	3	—	—	—	—	—	—
4500	—	3	—	—	—	—	—	—
2769	—	4	—	—	—	—	—	—
2741	—	11	—	—	2	—	—	+
2730.1	—	5	—	—	—	—	—	—
2730.2	—	8	—	—	—	—	—	—
2821	—	6	—	—	—	—	—	—
2826.1	—	4	—	1 (squ. ax.)	—	—	—	—
4501.1	—	6	1	—	3	—	—	—
2615.1	—	7	—	6 (œil + hypotonie)	—	—	—	—
4504	—	8	—	—	—	—	—	—
4557	—	6	—	1 (pigment)	1	—	—	—
4554	—	3	3	—	—	—		
4579	—	5	5	—	—	—		
2826.2	—	3	1	—	1	—	1	—
3038	—	2	—	—	—	—	—	—
3053.1	—	6	—	—	2	—	2	—

TABLEAU IV bis

Répartition en % des anomalies morphologiques observées dans le Groupe C.

	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
				corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
Nb. total	103	12	9	9	—	10	18
Répartis dans : nb. portées	19	5	4	5	—	3	2
% total		12 %	9 %	9 %	—	10 %	18 %

Sur les 19 gestations qui ont fait l'objet de cette observation aucun avortement n'est survenu.

Dans deux cas la totalité des animaux ont été trouvés morts dans leur nid à la naissance (4554 - 4579). D'autres Lapereaux sont mort-nés dans trois autres portées (4400, 4501 - 1, 2826 - 2). L'examen morphologique des 12 morts n'a révélé aucune malformation apparente, leurs caractéristiques pondérales étaient normales.

Sur l'ensemble du groupe, un nombre important de portées contenait moins de 6 animaux (8 d'entre elles), ce qui laisse supposer l'existence de nombreuses résorptions fœtales sous l'effet de cette dose d'actinomycine.

Sur les 103 animaux nouveau-nés appartenant à cette série expérimentale, 9 d'entre eux (soit un peu moins de 9 %) répartis dans 4 portées, ont présenté diverses malformations :

— chez l'un de ces animaux (Ch 15 - 4100) les quatre membres présentaient une sub-luxation des articulations tarsiennes et carpiennes entraînant une torsion des pattes vers l'extérieur que nous avons dénommée communément « pied-bot » ; dans le reste de la portée nous avons noté un retard de l'ouverture des yeux (environ 2 jours) et de l'ossification de la voûte crânienne ;

— l'observation d'un survivant de la portée 2826 - 1, 6 mois après la naissance a révélé une torsion du squelette axial et costal particulièrement visible si l'on regarde la position du sternum vis-à-vis de l'axe du corps (fig. 12), et une malformation des articulations tibio-fémora-

FIG. 12. — Lapereau 2826-1 au 6e mois. Déviation de l'axe du sternum.

les. Aucune autre anomalie morphologique n'a été révélée chez les frères de cet animal ;

— dans la portée 4557, l'un des animaux (MAc 8) possédait une pigmentation noire par plaques sur les faces supérieure et inférieure du cerveau (fig. 13) ; une vérification sur les autres animaux de cette portée nous a montré que cette anomalie était particulière à cet individu.

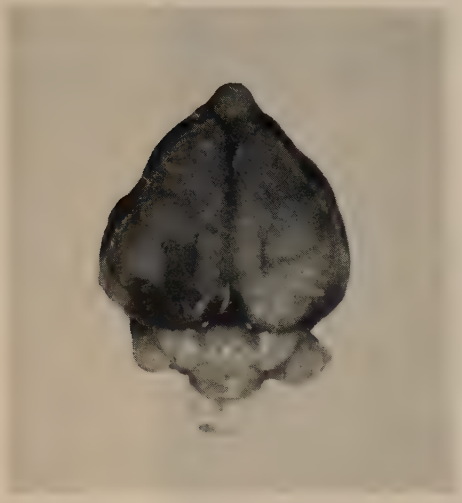


FIG. 13. — MAc 8 - 4557. Pigmentation noire dans la région occipitale du cortex.

La présence de cette coloration suggérait l'éventualité d'un trouble métabolique dans le processus de synthèse des mélanines ; une telle hypothèse n'était pas en contradiction avec le travail de Wilde (1955) qui avait effectué un rapprochement entre la présence de fortes quantités de phényl-alanine dans la zone de différenciation de la crête neurale de l'embryon de Salamandre et l'apparition dans ce tissu de cellules pigmentées anormales. L'étude biochimique des métabolites urinaires présentait un intérêt particulier chez cet animal et c'est en partie à la suite de ces observations que nous avons étendu notre expérimentation biochimiqe à l'ensemble de ce travail.

Toutefois, si l'intervention de l'actinomycine dans ce phénomène n'est pas exclue, nous avons constaté ultérieurement que ce n'était pas le résultat d'une action spécifique ; quelques animaux utilisés à une toute autre étude dans notre laboratoire ayant présenté la même pigmentation ;

— enfin, 6 des 7 animaux issus de la portée 2615 - 1 sont nés « sans paupières » (fig. 14), les globes oculaires avaient un aspect trouble causé par des taies de la cornée (fig. 15) parfaitement visibles dans les jours suivants. L'étude des potentiels évoqués visuels de ces animaux nous a permis de constater qu'ils avaient conservé une perception visuelle des éclairs lumineux malgré une apparente cécité.

En outre, les Lapereaux de cette même portée présentaient des troubles posturaux vraisemblablement consécutifs à une hypotonie : vers le 15^{e} jour, à l'âge où les animaux auraient dû avoir un port et une locomotion normaux, leurs déplacements s'accompagnaient d'oscillations latérales de la tête souvent suivies de la chute brutale de celle-ci vers le sol.

Comme nous le verrons dans l'exposé des résultats biochimiques, cette anomalie nous a semblé entrer dans le cadre d'un syndrome pathologique connu sous le nom de maladie de Hartnup.

Au cours du développement, nous avons par ailleurs relevé des retards de l'ordre de 2 à 3 jours dans la croissance pondérale chez les animaux des portées 2741, 3053 - 1, et 4501 - 1 ; individuellement, les Lapereaux MAc 45 - 2826 - 2. et Mac 8 - 4557 présentaient un poids corporel particulièrement faible (respectivement 75 g au 9^{e} jour et 95 g au 11^{e} jour) correspondant aux caractéristiques d'animaux de 5 à 6 jours plus jeunes. Pour l'un d'eux (MAc 45), l'ossification des os du crâne était sensiblement en rapport avec ce retard. Nous avons également retrouvé une persistance anormale d'une large fontanelle chez 2 des animaux de la portée 3053 - 1. De plus, dans la portée 2741, déjà notée pour son retard pondéral, l'ouverture des fentes palpébrales n'a eu lieu qu'au 11^{e} jour.

FIG. 14 et 15. — Lapereaux 2615 - 1. Les fentes palpébrales étaient ouvertes dès la naissance ; l'examen ultérieur a révélé l'existence de taies de la cornée.

Etant donné le nombre relativement important des sujets d'expérience utilisés dans ce groupe nous nous sommes cru autorisé à exprimer les résultats en pourcentages (Tableau IV bis) que nous opposerons aux résultats obtenus par les différents modes d'investigation que nous avons choisis.

GROUPE D (35 µg/kg/j pendant 5 jours) — TABLEAU V

Nous n'avons observé aucune perturbation au décours des 6 gestations qui constituent ce groupe.

Cependant, le nombre moyen d'animaux nés dans cette série (moins de 6) ainsi que la présence d'un mort-né dans les portées 2677 - 1 et 2689 - 2, donnent à penser que l'actinomycine est responsable, à cette dose, de plusieurs morts fœtales.

L'ensemble de ces animaux n'a présenté aucune malformation ni aucun trouble de croissance staturo-pondérale à l'exception de la portée 2677 - 1, dans laquelle nous avons relevé un nombre important d'anomalies :

— sur les 6 Lapereaux arrivés à terme, 5 seulement étaient vivants; l'un d'eux est mort au 7e jour en état de cachexie, et 2 sur les 4 autres sont demeurés à des poids corporels inférieurs à la normale d'environ 20 à 30 g. tout au long de leur développement ;

— d'autre part, deux d'entre eux présentaient une malformation : une hydrocéphalie (MAc 29 - fig. 16) et un « pied bot » (Ch 69 - fig. 17).

TABLEAU V

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe D.

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
2827	—	4	—	—	—	—	—	—
2677.1	—	7	1	2 (hydroc. «pied-bot»)	3	—	—	—
2689	—	7	1	—	—	—	—	—
2882.1	—	5	—	—	—	—	—	—
2882.2	—	4	—	—	—	—	—	—
3018	—	6	—	—	—	—	—	—

GROUPE E (40 µg/kg/j. — pendant 5 jours) — TABLEAU VI

Un cas d'avortement (4506 - 1) au 25e jour de la gestation a été noté.

Dans une portée (4507 - 1) tous les animaux étaient mort-nés.

Aucune anomalie d'ordre morphologique et aucun retard de développement pondéral n'ont été décelés.

TABLEAU VI

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe E.

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
4506.1	+ (25e j)							
4509.2	—	5	—	—	—	—	—	—
4507.1	—	6	6	—	—	—		
4510.1	—	6	—	—	—	—	—	—
4505.1	—	6	—	—	—	—	—	—

FIG. 16 et 17. — Lapereaux 2677 - 1.
MAc 29 hydrocéphale.
Ch 69 malformation de l'articulation carpienne.

Le bilan partiel des observations se rapportant aux animaux issus des mères traitées du 7e au 11e jour de leur gestation se trouve résumé dans le Tableau VII.

Cette analyse globale permet de mettre en évidence des proportions relativement importantes d'anomalies :

— sur 39 portées examinées, 3 ont avorté, 11 ont été réduites ou totalement détruites (23 animaux étant mort-nés) ; 6 % des animaux ont présenté des malformations et, suivant l'élément de comparaison choisi, 1 à 30 % ont présenté un retard de croissance staturo-pondérale de 2 à 3 jours ou plus.

Afin de tenter une réduction des incidences de l'actinomycine sur la morphologie externe, nous avons effectué une autre série d'expériences en ne pratiquant qu'une seule administration d'actinomycine au 9e jour de la gestation, soit au milieu de la période critique de différenciation du système nerveux. Nous espérions ainsi frapper électivement la maturation fonctionnelle des centres nerveux en épargnant au maximum la morphologie externe des animaux.

TABLEAU VII

Répartition des anomalies morphologiques observées dans les Groupes A, B, C, D et E, exprimées en % sur la totalité du groupe de Lapereaux et en % de portées contenant des Lapereaux anormaux.

	Avort.	Nb. anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
Nb total		214	23	13	17	3	17	31
% total			11 %	6 %	9 %	1,7 %	9 %	17 %
répartis ds :								
nb portées .	3	39	11	6	8	2	4	3
% nb port...	7,5 %		28 %	17 %	22 %	6 %	11 %	8 %

GROUPE F (40 µg/kg au 9e jour) — TABLEAU VIII

Pour cette dose, nous n'avons pas observé d'avortement ; dans une des portées (2827 - 2) tous les Lapereaux étaient mort-nés, mais aucun de ces 6 animaux ne présentait d'anomalie apparente.

Par ailleurs, les deux portées 2859 et 3070 étaient respectivement réduites à 3 et 2 animaux.

Une malformation des membres a été notée chez l'un des Lapereaux de la portées 2859, les pattes de cet animal étaient torses.

La croissance pondérale a été normale pour l'ensemble de cette série, à l'exception de deux animaux (MAc 58 et MAc 59 - 2883), qui présentaient en outre un retard d'ossification.

TABLEAU VIII

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe F.

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
2827.2	—	6	6	—	—	—		
2859	—	3	—	1 (membres)	—	—	—	—
2883	—	11	—	—	2	—	2	—
3070	—	2	—	—	—	—	—	—

GROUPE G (50 µg/kg au 9e jour) — TABLEAU IX

L'une des gestations de ce groupe (2906 - 2) a été partiellement interrompue au 28e jour pour 2 fœtus ; puis au 29e jour, à la suite d'une hémorragie abondante, nous avons extrait par césarienne 10 autres fœtus dont un était « macéré ». Aucun de ces fœtus ne présentait de signe de vie, même au moment de l'intervention ; aucun non plus, de malformation.

Un animal mort-né a été dénombré dans la portée 2952.

Nous n'avons observé aucune malformation ni aucun trouble de la croissance staturo-pondérale parmi les animaux de ce groupe.

TABLEAU IX

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe G.

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
2710	—	8	—	—	—	—	—	—
4506.2	—	2	—	—	—	—	—	—
2906.2	+ (28e j)	12						
2952	—	8	1	—	—	—	—	—

GROUPE H (60 µg/kg au 9e jour) — TABLEAU X

Nous n'avons pas constaté d'avortement, mais sur les 8 portées qui ont reçu cette dose d'actinomycine, l'une (2736) comprenait 11 Lapereaux tous morts, malgré une césarienne pour 5 d'entre eux ; une autre (4559) comptait 8 morts in utéro sur 11 Lapereaux : parmi ces 8 morts, 2 remontaient au stade embryonnaire, 3 à un stade fœtal précoce, les 3 dernières étaient vraisemblablement contemporaines à la mise bas.

Dans cette même portée, l'un des Lapereaux (MAc 5 bis - 4559) a présenté tardivement une paralysie des membres postérieurs que nous avons attribuée à une scoliose très accusée.

Aucune diminution significative des poids corporels ou cérébraux n'a été constatée, seuls 3 animaux ont présenté un retard d'ossification de la région bregmatique : MAc 38 - 4551 - 2. ainsi que MAc 65 et MAc 69 - 3053 - 2. Enfin, la portée 4513 a ouvert les yeux avec un retard d'environ 2 jours.

TABLEAU X

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe H.

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
4510.2	—	9	—	—	—	—	—	—
4511.2	—	4	—	—	—	—	1	—
4501.2	—	8	—	—	—	—	—	—
4559	—	11	8	1 (scoliose)	—	—	—	—
2736	—	11	11	—	—	—		
2689.1	—	11	—	—	—	—	—	—
3053.2	—	11	—	—	—	—	2	—
4513	—	7	—	—	—	—	—	—

GROUPE I (80 µg/kg au 9e jour) — TABLEAU XI

TABLEAU XI

Résumé des observations morphologiques concernant le Groupe I

A l'exception d'un animal mort-né dans la portée 2700, aucune anomalie de quelque sorte n'a été constatée dans ce groupe.

Portée	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
4509.1	—	7	—	—	—	—	—	—
2700.1	—	5	1	—	—	—	—	—

Comme précédemment, nous avons rassemblé l'essentiel de ces observations en un tableau (Tableau XII).

TABLEAU XII

Répartition des anomalies observées dans les Groupes F, G, H, I, exprimées en % sur la totalité du groupe de Lapereaux et en % de portées contenant des Lapereaux anormaux.

	Avort.	Nb Anx.	Mort-nés	Malformés	Retard pondéral		Retard	
					corp.	SNC	ossif.	ouv. yeux
Nb. total ..		136	27	2	2	—	4	7
% total			29 %	1,6 %	2 %	—	4 %	7 %
Répartis ds :								
nb portées .	1	18	6	2	1	—	3	1
% nb. port.	6 %		33 %	11 %	6 %	—	16 %	6 %

A l'appui des bilans partiels de l'examen morphologique des portées des groupes A, B, C, D et E, traitées du 7e au 11e jour de la gestation (Tableau VII), d'une part, des groupes F, G, G et I traitées au 9e jour, de l'autre, nous pouvons dégager les généralités suivantes.

Sur un premier point, nous voyons que l'administration d'une dose unique et faible d'actinomycine entraîne une augmentation importante de la léthalité néonatale (29 % au lieu de 11 %).

Au contraire, nous constatons une réduction dans des proportions notables, de l'incidence des malformations (1,6 % au lieu de 6 %) et, à un moindre degré, des effets de l'actinomycine sur la croissance staturo-pondérale.

Dans la mesure où nous n'avons pas eu l'occasion d'identifier de malformations parmi les Lapereaux mort-nés, ces observations sont en accord avec le but que nous nous étions fixé : sans obtenir l'absence de toute malformation morphologique, nous avons considérablement réduit leur fréquence et nous nous proposons, au cours des chapitres suivants, de vérifier par des méthodes plus élaborées, l'intégrité biochimique et neurophysiologique ainsi que la sensibilité aux agents pharmacologiques des animaux indemnes sur le plan morphologique.

RESULTATS NEUROPHYSIOLOGIQUES

Nous venons de voir que pour certaines doses, il était possible d'obtenir un nombre important de jeunes animaux d'apparence morphologique normale malgré l'emploi d'un agent tératogène tel que l'actinomycine D.

L'essentiel de notre travail a été consacré à l'étude neurophysiologique des animaux issus de mères traitées en nous attachant plus particulièrement à l'observation de ceux qui ne présentaient pas de malformations, puisque nous désirions précisément savoir jusqu'à quel point ces animaux étaient épargnés.

Avant d'aborder l'exposé des résultats que nous avons obtenus, en appliquant les techniques décrites précédemment (p. 44 à 48), nous devons définir notre mode d'interprétation des tracés E.Co.G. et des enregistrements d'activités évoquées.

MODE D'INTERPRETATION DES E.Co.G.

Les enregistrements E.Co.G. des animaux témoins en expérimentation aiguë ou chronique nous ont fourni l'élément de comparaison nécessaire.

Sans reprendre plus en détail la description des activités corticales du jeune Lapin normal, puisque son évolution a fait l'objet d'un exposé dans la partie historique de ce travail (p. 31), nous nous référerons seulement aux illustrations extraites des tracés témoins (fig. 18 à 24).

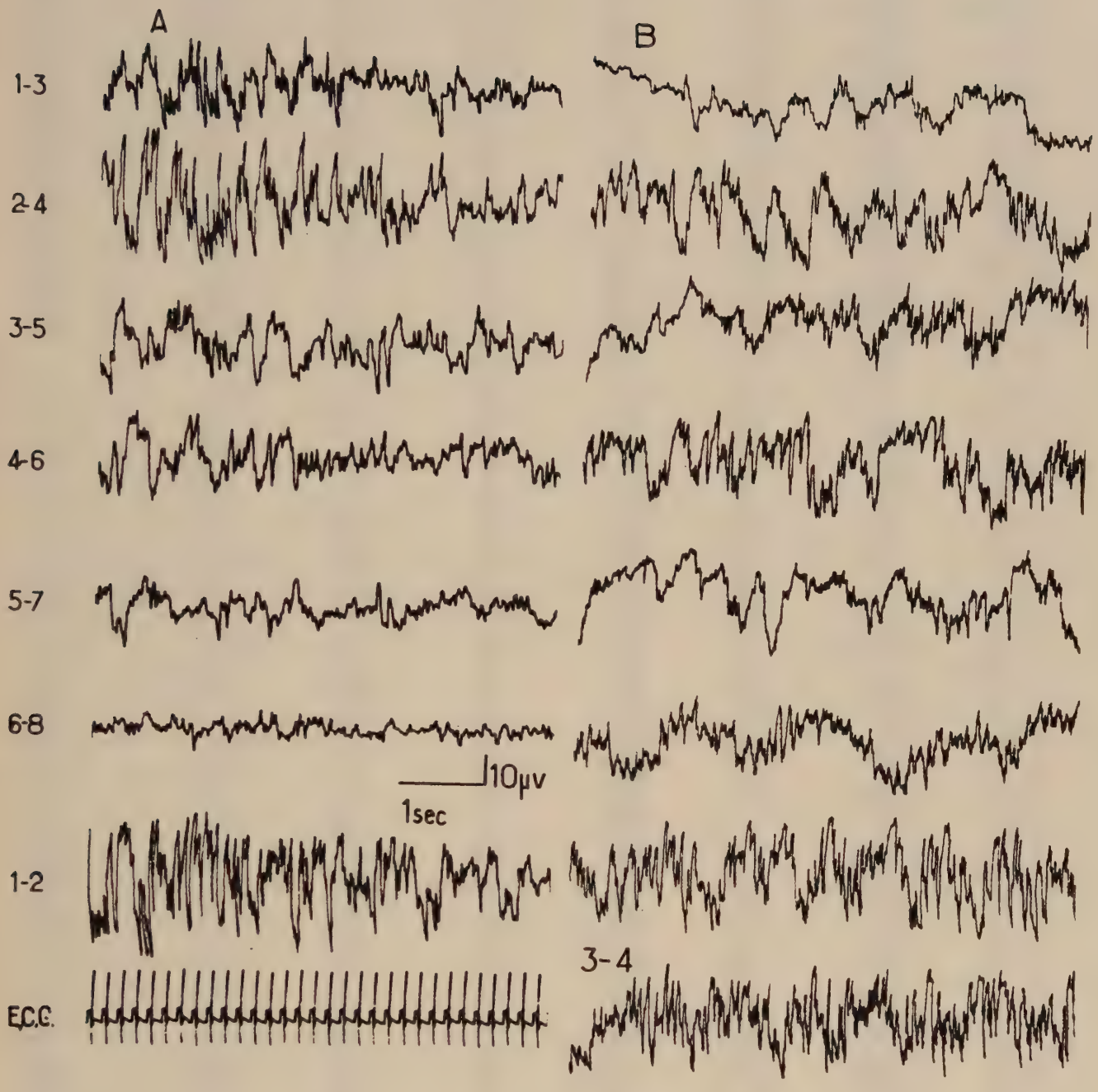


FIG. 18

A — enregistrement aigu
B — enregistrement chronique
animaux du 2e jour, en période de sommeil, le rythme est rapide, le tracé inorganisé, l'amplitude est particulièrement faible au niveau des dérivations occipitales.

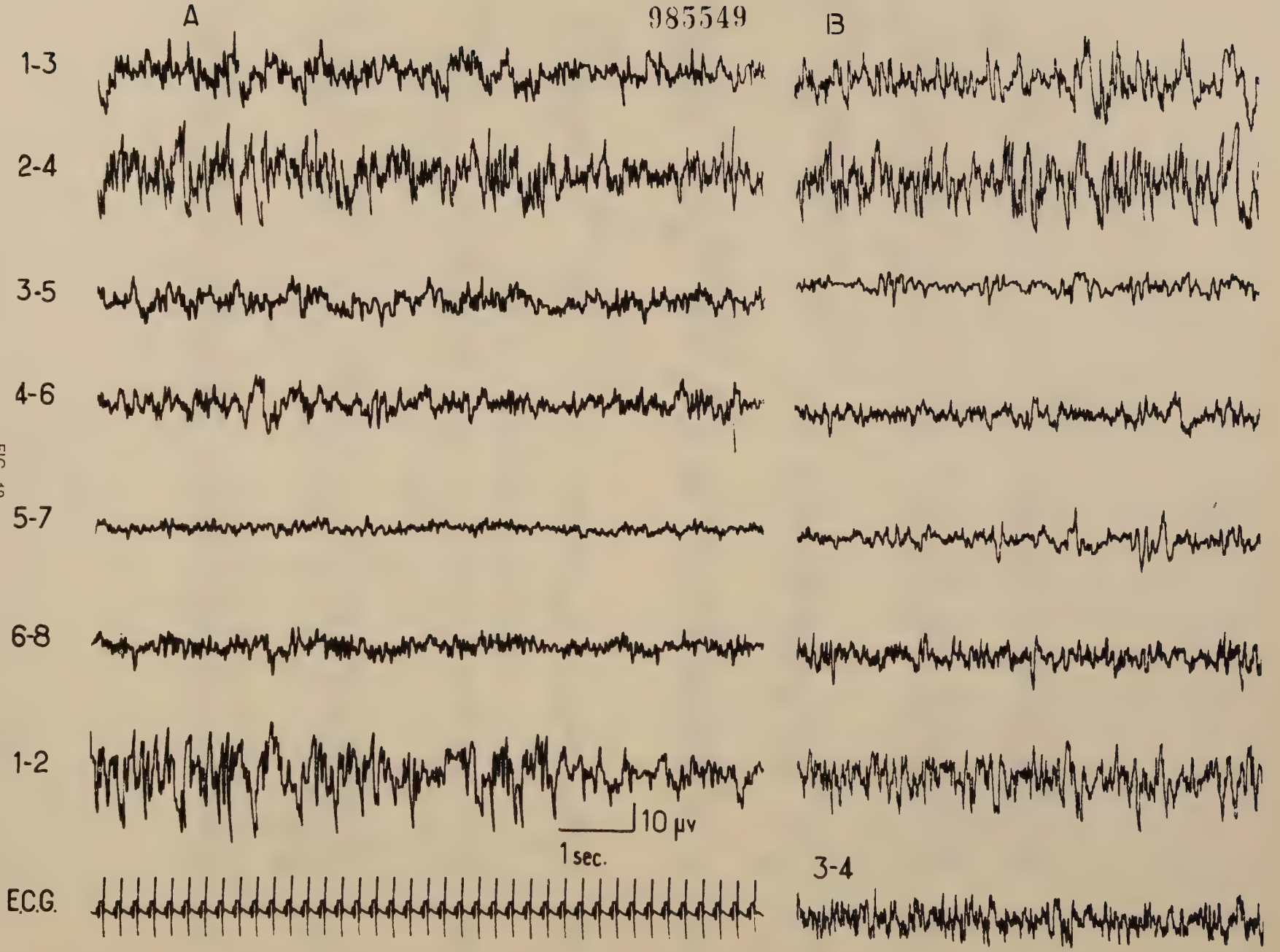


FIG. 19

A — enregistrement aigu
B — enregistrement chronique
animaux du 5e jour, en période de sommeil, l'activité est plus stable,
l'activité des dérivations antérieures tend à se ralentir.

FIG. 20
A — enregistrement aigu
B — enregistrement chronique
animaux du 7e jour, en période de sommeil: apparition d'activités lentes à 3-4 c/sec., et augmentation de l'amplitude.

FIG. 21
A — enregistrement aigu
B — enregistrement chronique
animaux du 9e jour, en période de sommeil, apparition des fuseaux sur les dérivations bregmatiques, enrichissement des activités occipitales.

FIG. 22

A — enregistrement aigu

B — enregistrement chronique

animaux du 12e jour, en période de sommeil ; en A, organisation des fuseaux ; en état de somnolence, en B, activité rapide d'éveil, entrecoupée de fuseaux de sommeil en voie de synchronisation contralatérale.

FIG. 23
A — enregistrement aigu
B — enregistrement chronique
animaux du 15e jour, en période de sommeil, enrichissement des activités frontales et bregmatiques en fuseaux et en ondes lentes, avec synchronisation contralatérale de ces activités.

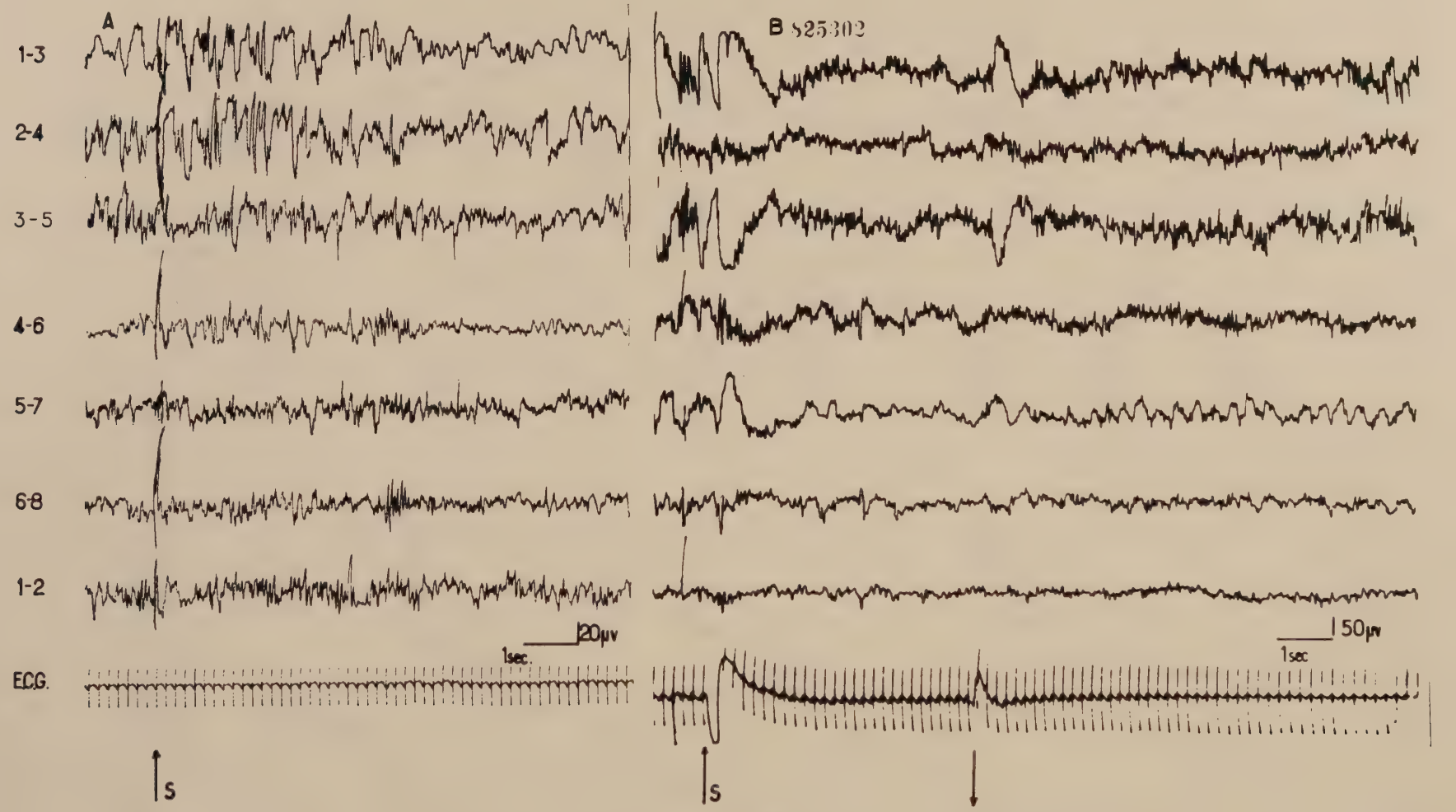


FIG. 24. — Evolution de la réaction d'éveil.
A — animal du 7e jour, la stimulation (S) entraîne une dépression de l'activité à la suite de la post-décharge.
B. — animal du 10e jour, la diminution d'amplitude et l'augmentation de fréquence s'accompagnent d'une projection sur le cortex occipital du rythme théta d'origine hippocampique.

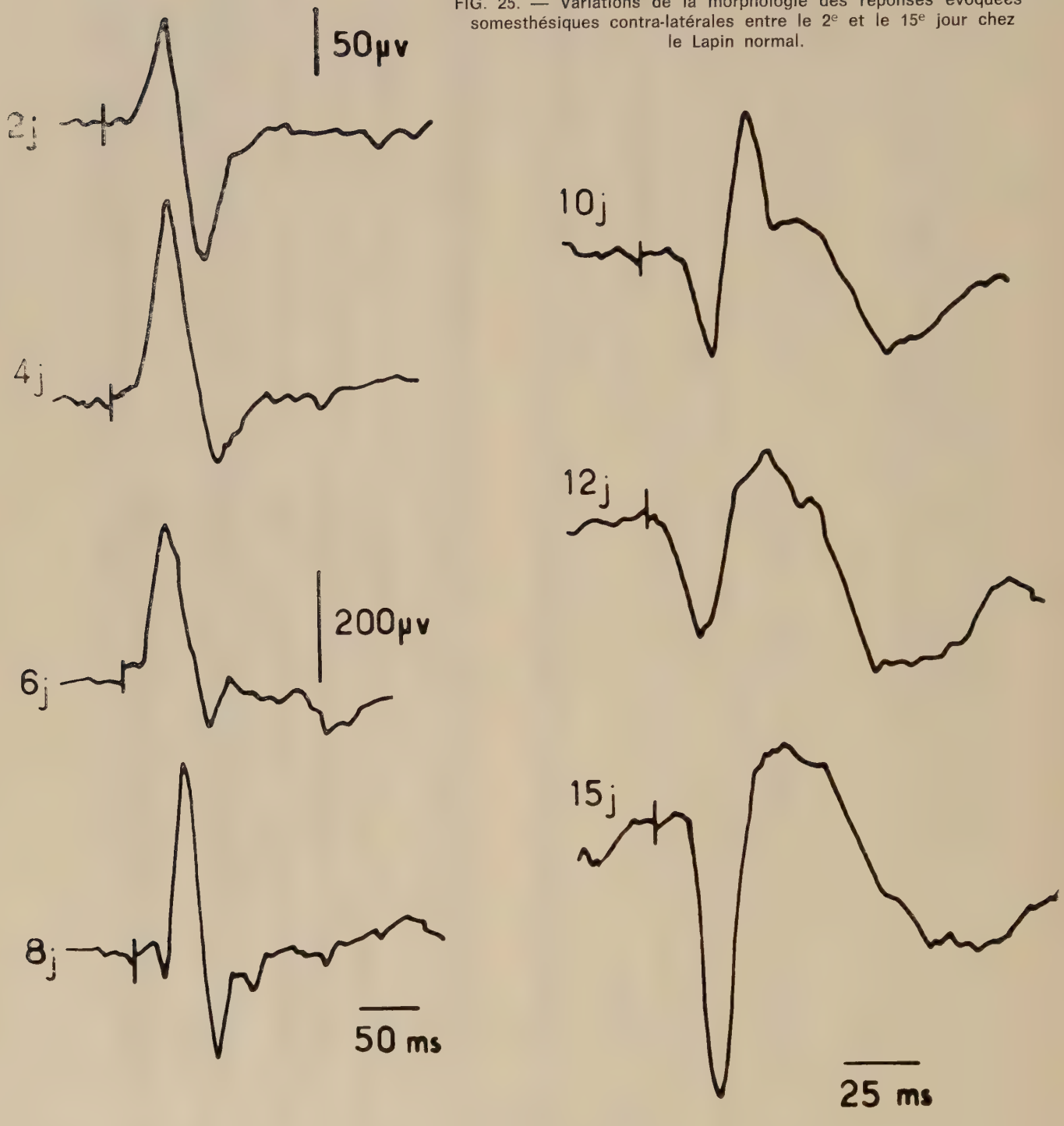


FIG. 25. — Variations de la morphologie des réponses évoquées somesthésiques contra-latérales entre le 2e et le 15e jour chez le Lapin normal.

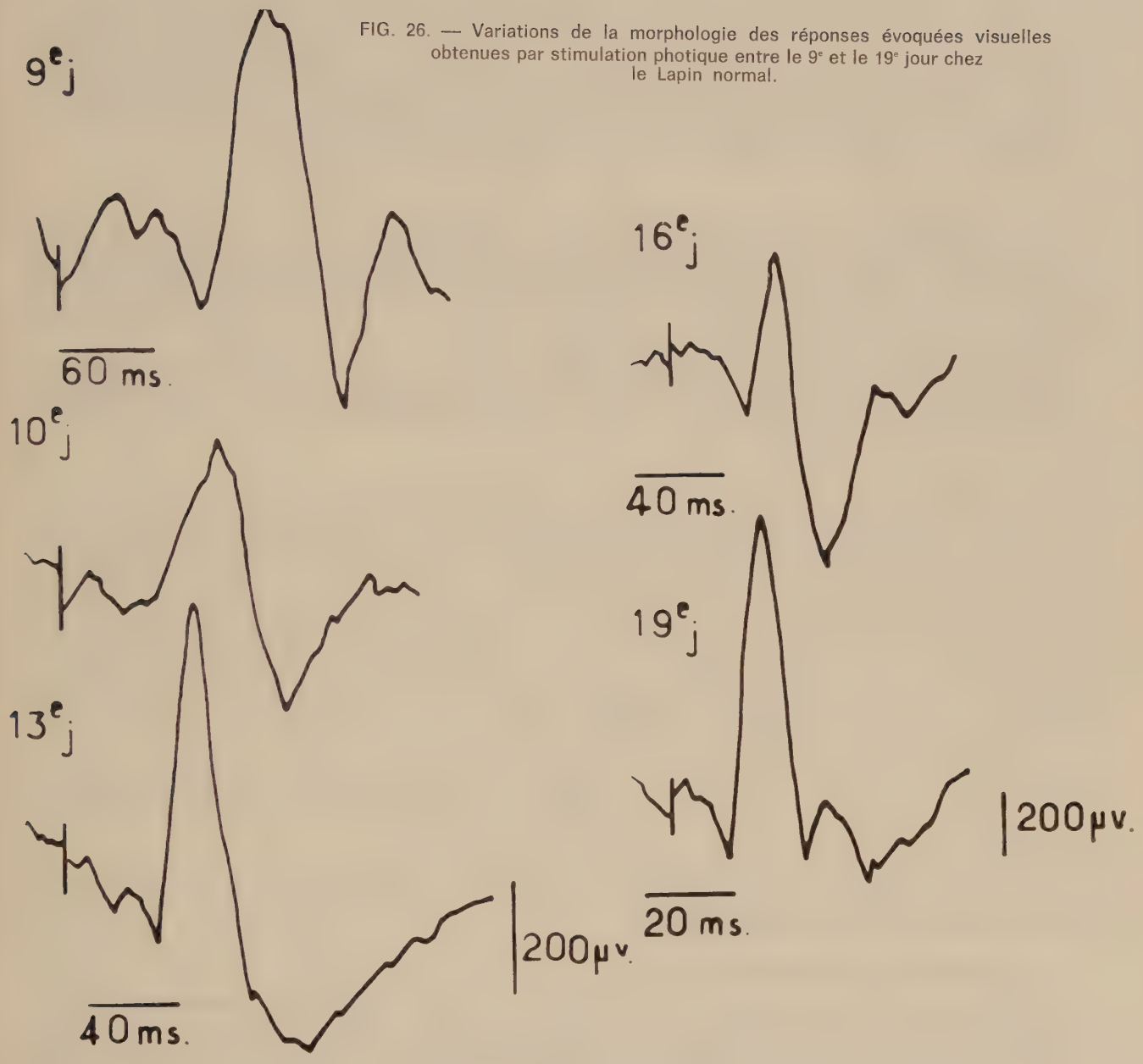


FIG. 26. — Variations de la morphologie des réponses évoquées visuelles obtenues par stimulation photique entre le 9e et le 19e jour chez le Lapin normal.

Ces illustrations montrent une concordance totale entre les résultats obtenus par les deux techniques d'enregistrement que nous avons choisies.

L'amplitude et la morphologie des activités bio-électriques, la chronologie de l'apparition progressive des éléments matures sont parfaitement superposables ; nous signalerons cependant que l'enregistrement chronique permet de recueillir des activités rapides d'éveil (fig. 22) que l'on n'observe en cours d'expérimentation aiguë qu'après une longue période de latence, la curarisation ayant vraisemblablement un rapport avec la disparition de ce type d'activité.

L'étude comparée des activités corticales des animaux témoins et des animaux « actinomycinés » ne pouvait être réalisée que par la confrontation minutieuse des tracés recueillis dans les deux groupes. En l'absence de méthode satisfaisante de quantification de l'activité corticale, et devant la part subjective évidente que comportait cette analyse, nous avons été amené à établir un barème qui permette de matérialiser les différences rencontrées, sans nous dissimuler ce que celui-ci peut avoir de criticable et de peu rigoureux.

Les éléments que nous avons cru pouvoir apprécier sont les suivants :

— **Amplitude :**

Partant du fait que l'amplitude des activités bioélectriques corticales s'accroît progressivement de 30 à 40 µVolts au 2e jour, à 60-80 µVolts au 7e jour, pour atteindre 150 µVolts et plus vers le 15e jour, nous avons sanctionné du signe +, ++, ou +++ les tracés dont l'amplitude maxima était plus ou moins inférieure à ces valeurs normales ; le nombre de + étant proportionnel à l'importance du retard apparent de développement.

Par exemple le tracé du Lapereau MAc 1-4501-1 (fig. 37) qui présentait une amplitude maxima de 20 µVolts au 6e jour a été coté à 3 +, puisque à cet âge son tracé aurait dû présenter une amplitude de l'ordre de 50 à 60 µVolts ; cette différence d'amplitude correspondait à un retard d'environ 4 à 5 jours.

— **Morphologie :**

Deux types d'anomalies peuvent se présenter dans la morphologie des tracés : d'une part, l'absence, à un âge donné, des éléments caractéristiques du degré de maturité correspondant, de l'autre l'apparition d'activités pathologiques, le plus souvent paroxystiques, spontanées.

Dans les cas relevant du premier type, nous avons procédé comme précédemment à l'attribution de 1 à 3 + suivant l'importance du retard de maturation ; ainsi le Lapereau MAc 21-4513 (fig. 48) dont le tracé, enregistré au 15e jour, ne présentait que quelques rares fuseaux de sommeil le plus souvent à l'état d'ébauches, a été coté à 2 +, cette anomalie semblant correspondre à un retard de maturation d'environ 3 jours.

Par ailleurs, nous avons chiffré de 1 à 3 +,les éléments pathologiques relevés sur les tracés de quelques animaux, augmentant le nombre de + suivant la gravité et suivant la durée de ces anomalies. A titre d'exemple, nous citerons le cas de l'animal Ch. 165-2906-1 (fig. 31 a et b) dont la crise épileptique spontanée généralisée nous a permis d'affecter la morphologie de son tracé de 3 +.

Bien qu'ils ressortent aux aspects morphologiques des activités corticales, nous avons chiffré séparément les éléments suivants :

— **Différenciation antéro-postérieure :**

Nous avons attribué le signe ± ou + aux E.Co.G. pour lesquels la différence entre la morphologie des activités antérieures d'une part, occipitales de l'autre, était imprécise ou inexistante, ce défaut de différenciation correspondant à la fois à une amplitude anormalement faible des activités frontales ou bregmatiques (MAc 1. - Fig. 37) et à un retard de l'organisation des tracés obtenus dans ces mêmes aires antérieures.

— **Symétrie :**

Nous avons annoté du signe + les tracés présentant une asymétrie entre les activités recueillies sur les deux hémisphères cérébraux lorsque celle-ci n'était pas imputable à un défaut de montage.

— **Post-décharge :**

Nous avons considéré comme normales les post-décharges consécutives aux stimulations douloureuses, auditives ou visuelles chaque fois que leur amplitude atteignait sensiblement l'amplitude maxima du tracé spontané ; nous avons symbolisé par le signe ± l'inconstance ou la faible amplitude de cette décharge, le symbole O signifiant son absence.

Enfin, nous avons examiné la morphologie des réactions d'éveil provoquées par les stimulations somatiques ou sensorielles en les évaluant sous deux aspects :

— **Réaction d'éveil :**

Normalement caractérisée par une chute d'amplitude et une augmentation du rythme, son inconstance a été sanctionnée par le signe ±, son absence par le signe O.

— **Eveil hippocampique :**

L'absence de rythme théta d'origine hippocampique en projection sur les aires corticales postérieures après le 9e jour a été sanctionnée des signes ±, + ou ++ suivant qu'elle persistait au-delà du 10e, du 12e ou du 13e jour. Par exemple, le Lapereau MAc 57-2827-1 examiné au 11e jour a été affecté d'un + pour n'avoir pas présenté ce signe d'éveil quelle que soit la stimulation (fig. 33 B).

Nous signalons toutefois, à propos de cet élément E.Co.G. qu'il ne possède à nos yeux qu'une valeur indicative : si la majorité des Lapereaux témoins examinés a manifesté cette activité à partir du 9e jour, d'autres l'ont présentée dès le 7e jour, ou, au contraire, plus tardivement, vers le 11 - 12e jour.

Dans la pratique, nous avons signalé dans les tableaux récapitulatifs de ces résultats les anomalies maximales rencontrées chez les animaux en montage chronique, tout en signalant systématiquement ceux d'entre eux qui ont présenté au début de leur observation un certain nombre de caractères de retard fonctionnel dont la régression progressive, au cours du développement, nous a permis de les classer ultérieurement parmi les animaux normaux.

Les données numériques correspondant aux latences des potentiels évoqués et à leur fatigabilité apportent à cette étude une base de comparaison plus précise dans la mesure où ces caractéristiques sont significatives d'un âge bien déterminé.

Nous allons étudier, par conséquent, la précision avec laquelle nous avons pu dégager des différences entre les deux groupes expérimentaux.

MODE D'INTERPRETATION DES POTENTIELS EVOQUES

Afin de déterminer les retards éventuels dans la maturation des activités évoquées, nous avons considéré, en premier lieu, la date d'apparition de la phase surface positive initiale, donnant pour anormaux les potentiels évoqués demeurant biphasiques (phase négative suivie d'une phase positive), après le 9e jour pour les potentiels somesthésiques contra - latéraux, après le 11e jour pour les potentiels visuels (fig. 25 et 26).

Par ailleurs, pour les périodes du développement qui s'étendent en deçà et au-delà de la date d'apparition de la phase positive, nous disposions de l'élément numérique fourni par la latence des réponses évoquées. Nous avons donc été amené à établir la valeur statistique des diminutions de latence de chaque type de potentiel évoqué d'un jour à l'autre ; il importait en effet de définir l'amplitude des variations individuelles à l'intérieur de lots d'animaux constitués par des Lapereaux du même âge.

En ce qui concerne les potentiels évoqués somesthésiques contra-latéraux, la représentation graphique des variations de la latence (fig. 27) met en évidence la diminution progressive de sa durée en fonction de l'âge, avec un décrochement brutal au 9e jour correspondant à l'apparition de la phase surface positive qui vient précéder la réponse à partir de cette date.

Cependant la dispersion des valeurs est telle que l'on ne peut déterminer un retard de maturation que pour un écart de l'ordre de 15 à 20 % avec la moyenne statistique.

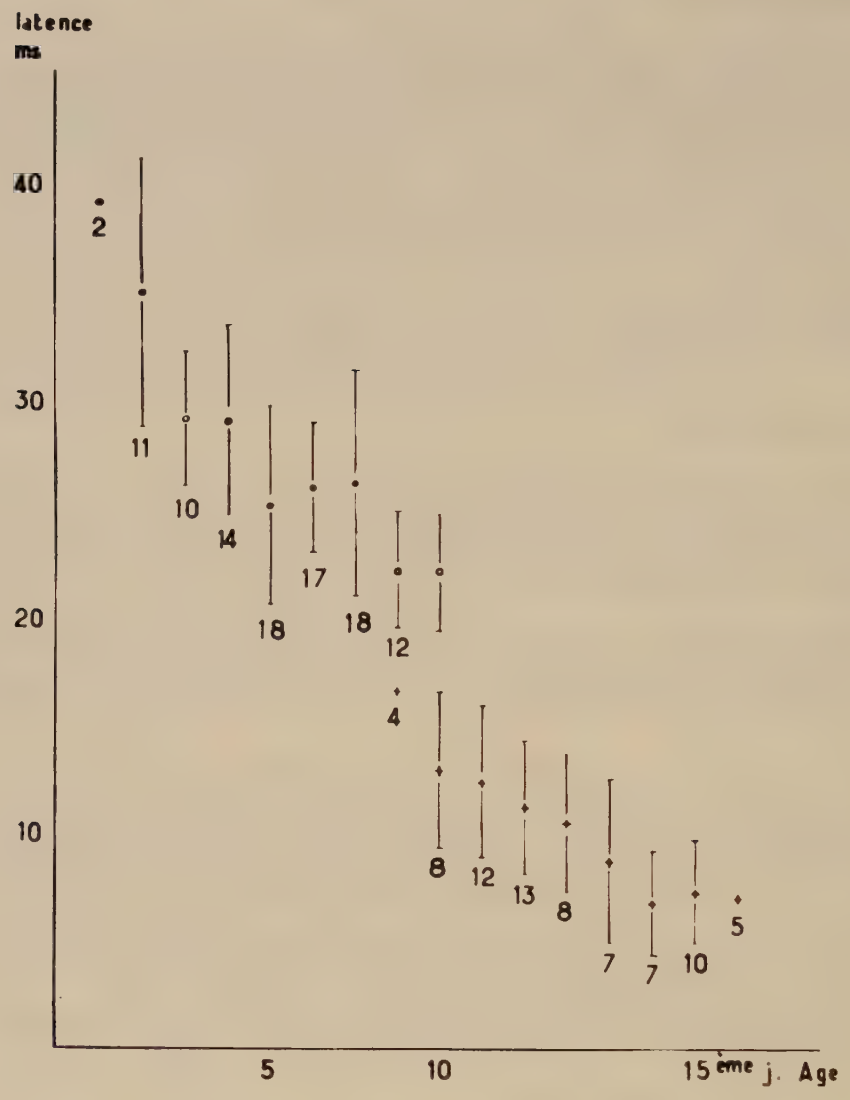


FIG. 27. — Représentation graphique des variations de la latence des potentiels évoqués somesthésiques contra-latéraux :
0 = latence des phases initiales négatives
+ = latence des phases initiales positives
les traits verticaux représentent les écarts types ;
les chiffres 2, 11, 10 ..... le nombre de mesures.

De même, la latence des potentiels évoqués somesthésiques recueillis sur l'aire réceptrice homolatérale décroît progressivement des premiers au 15e jour dans un rapport de 1 à 0,4 (fig. 28) ; l'analyse statistique met en évidence la même dispersion que précédemment : seuls les animaux chez qui la latence s'écarte d'au moins 15 à 20 % de la valeur moyenne propre aux témoins du même âge peuvent être considérés comme présentant un certain degré d'immaturité.

Enfin, l'évolution de la latence des potentiels évoqués visuels ne se distingue des schémas précédents que par la plus grande vitesse de sa diminution avec l'âge, celle-ci représentant un rapport de 1 à 0,25 entre les latences au 8e et au 17e jour (fig. 29).

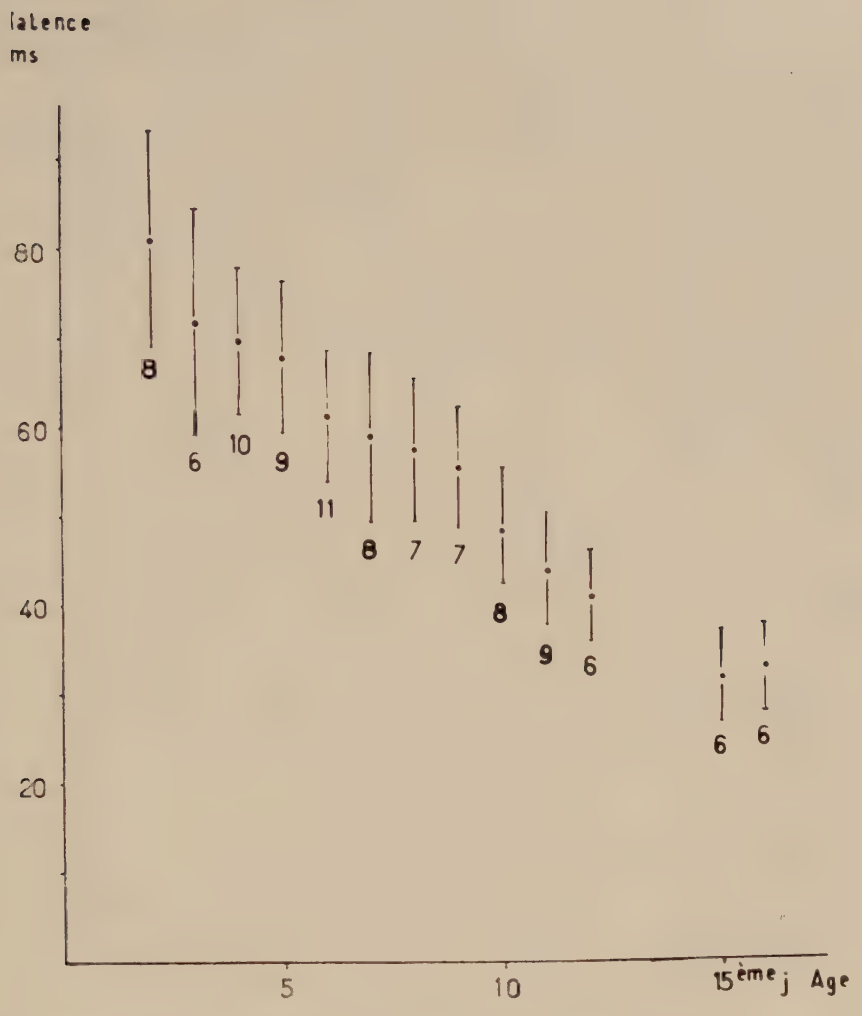


FIG. 28. — Représentation graphique des variations de la latence des potentiels évoqués somesthésiques homolatéraux.

Pour établir la fatigabilité de ces réponses, nous avons déterminé les fluctuations de leur amplitude, en effectuant la mesure de la hauteur des phases positives (après le 9e jour) et négatives évoquées par des stimulations isolées. Nous avons pu constater que les variations physiologiques établies sur un lot de plus de 100 animaux de tous âges étaient sensiblement constantes et comprises entre 83 et 119 % si l'on comptait pour 100 la hauteur moyenne. Ces chiffres ont ensuite été comparés aux moyennes des hauteurs mesurables pour des stimulations répétées à un rythme de 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 et 2/seconde.

Sans reprendre l'exposé des variations de la fatigabilité des potentiels évoqués somesthésiques contra-latéraux tel qu'il a été établi précédemment (p. 34), nous nous contenterons de dire que nous avons retenu à titre de base de comparaison pour notre expérimentation les fatigabilités observées aux fréquences de choc 0,5 et 1/sec. entre le 3e et le 11e jour (fig. 30).

L'on peut en effet retenir quelques observations de l'examen de ces « courbes de fatigabilités » en fonction de l'âge :

— il existe de très amples variations d'un animal à l'autre, choisis au même âge ;

— néanmois, comme l'illustre le graphique (fig. 30), la fatigabilité de la phase négative tend à décroître jusqu'au 6 - 7e jour, pour augmenter de façon particulièrement nette au moment de l'apparition de la phase positive initiale vers le 9e jour ;

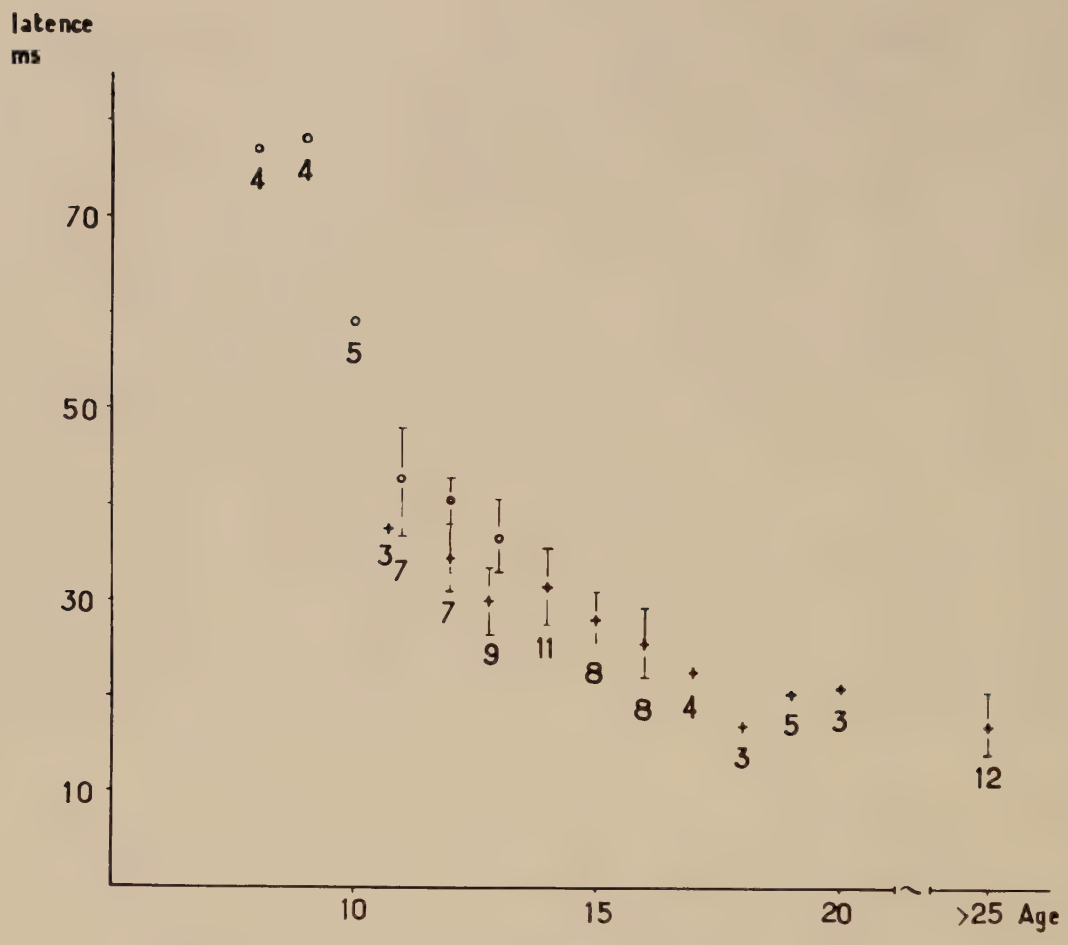


FIG. 29. — Représentation graphique des variations de la latence des potentiels évoqués visuels.
0 = latence des phases initiales négatives
+ = latence des phases initiales positives.

— la fatigabilité de cette phase positive ne varie pas sensiblement au cours de l'âge.

En conséquence, nous ne pourrons dégager un diagnostic de retard de maturation que dans les cas où la fatigabilité de ces réponses sera profondément augmentée.

L'étude de la fatigabilité des potentiels évoqués visuels ne nous a pas semblé pouvoir nous fournir un élément de référence étant donné la très forte variabilité individuelle de cette caractéristique.

En conclusion, si la phase initiale surface positive constitue un indice de maturité relativement précis, celà est moins vrai pour la latence des potentiels évoqués qui ne permet de définir l'âge théorique en bonne approximation qu'à $\pm$ 48 heures près. Il en est de même pour la fatigabilité des réponses somesthésiques. C'est pourquoi nous avons choisi pour la plupart de nos animaux une date d'expérimentation qui correspondît à la période, entre le 7' et le 15^{e} jour, où la morphologie et la latence des réponses évoquées somesthésiques et visuelles subissent les variations les plus significatives.

Rappelons que nos montages chroniques nous ont permis de recueillir les potentiels évoqués visuels à l'exclusion des potentiels somesthésiques : la douleur occasionnée par les sti-

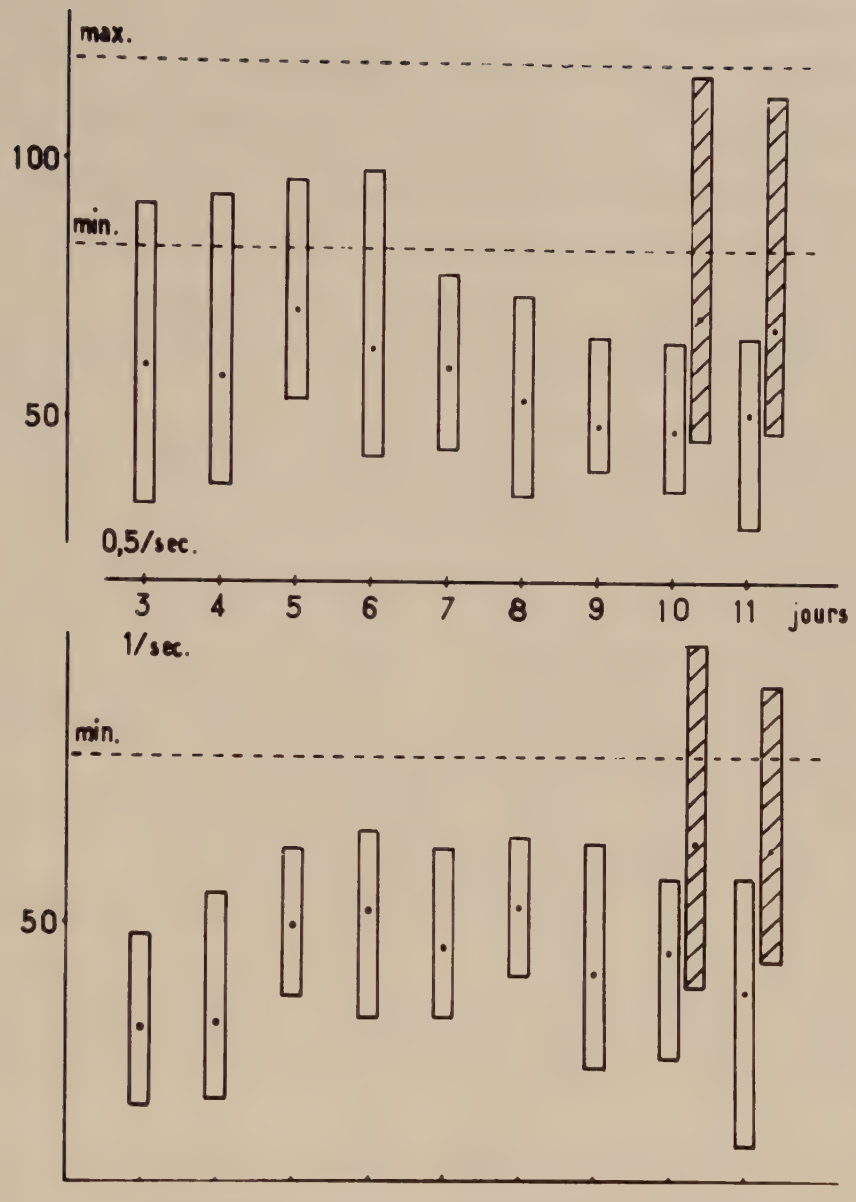


FIG. 30. — Représentation graphique de la fatigabilité des réponses évoquées somesthésiques contralatérales — pour 0,5 stimulations par seconde (schéma supérieur), 1 par seconde (schéma inférieur)
Les rectangles délimitent les variations d'amplitude exprimées en % de l'amplitude moyenne.
surfaces blanches = phases négatives
surfaces hachurées = phases initiales positives.

mulations somatiques entraînait une réaction reflexe de l'animal qui produisait des artéfacts nuisibles à la bonne interprétation des réponses corticales, et la susceptibilité pharmacologique de ces réponses (Delhaye [1964]), nous interdisait l'emploi des anesthésiques. Pour palier à cet inconvénient, nous avons sacrifié en expérimentation aiguë tous les animaux chroniques qui nous ont semblé redevables d'un examen plus complet.

Comme précédemment, nous allons retracer dans chacun des groupes expérimentaux, délimités suivant les doses de tératogène employé (Tableau I) l'ensemble des anomalies neurophysiologiques observées sur chacun des animaux.

ACTION DE L'ACTINOMYCINE

Groupe A — (20 µg/kg/j - pendant 5 jours) — TABLEAU XIII

Les activités corticales de 11 Lapereaux sur 15 examinés dans ce groupe étaient affectées d'anomalies.

Celles-ci concernaient essentiellement l'amplitude et la morphologie des activités spontanées.

Cinq sur six des animaux de la portée 2614-1 ont présenté un retard dans l'évolution de ces activités, tels que :

— amplitudes inférieures à la normale (MAc 14, Ch 21, 22 et 23).

— absence de fuseaux et d'activités lentes de sommeil (Ch 21, 22 et 23).

— absence de projection corticale de l'éveil hippocampique après le 9e jour (MAc 14, Ch 24).

En utilisant le montage chronique, notre but était de nous rendre compte de l'évolution de l'E.Co.G. des animaux retardés ; or, nous avons pu voir certains d'entre eux « rattraper » progressivement leur retard au cours des enregistrements journaliers ; en particulier dans ce groupe, les Lapereaux Ch 21 et 22, qui présentaient jusqu'au 7 - 8e jour des tracés faiblement voltés sans variations sensibles des fréquences pendant le sommeil, ont suivi, ultérieurement, une évolution telle que leurs activités corticales apparaissaient normales vers le 10 - 11e jour.

Au contraire de ces deux Lapereaux, les autres animaux de ce groupe ont conservé leur immaturité relative.

Les anomalies E.Co.G. relevées dans les autres portées sont d'un tout autre ordre.

Nous avons, en effet, observé l'apparition spontanée d'activités paroxystiques chez la plupart des Lapereaux de la portée 2906-1. Au cours de certains enregistrements, nous avons assisté au développement de crises épileptiques généralisées avec alternance régulière des différentes phases toniques, tonico-cloniques et de repos (fig. 31).

Pour les Ch 163, 165 et 166, ces crises épileptiques s'accompagnaient des désordres symptomatiques habituels : miction, défécation, et clonies des mâchoires ; l'un deux (Ch 165) est d'ailleurs mort sous nos yeux à la fin d'un épisode particulièrement aigu.

De même, nous avons retrouvé certains de ces éléments paroxystiques chez le Lapereau MAc 71-2951 (fig. 32), sous la forme de pointes-ondes rythmiques localisées aux aires corticales antérieures.

L'étude des activités évoquées nous a permis de déceler des retards de 2 à 3 jours dans l'évolution des latences chez 4 animaux répartis dans les portées 2906-1 et 2951. En outre, l'absence de phase positive initiale, la longue latence et la fatigabilité du potentiel évoqué somesthésique de l'animal MAc 46 (9e jour) semblaient correspondre à un retard de maturation sur l'ensemble des paramètres de cette activité.

TABLEAU XIII

Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe A.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		EC oG							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
2614	6	4	3	1	—	1	—	2	—	—	—	5
2906-1	4	3	4	1	—	—	—	—	2	1	—	4
2951	5	—	1	—	—	1	—	—	2	—	1	2

A : amplitudes.
M : morphologie.
≠ AP : différenciation antéro-postérieure
S : symétrie.
PD : post-décharge.
★ animaux présentant des anomalies morphologiques.

PEV : potentiel évoqué visuel.
R Ev : réaction d'éveil.
H : hippocampe.
PES CL : potentiel évoqué somesthésique contra-latéral.
PES HL : homo-latéral.

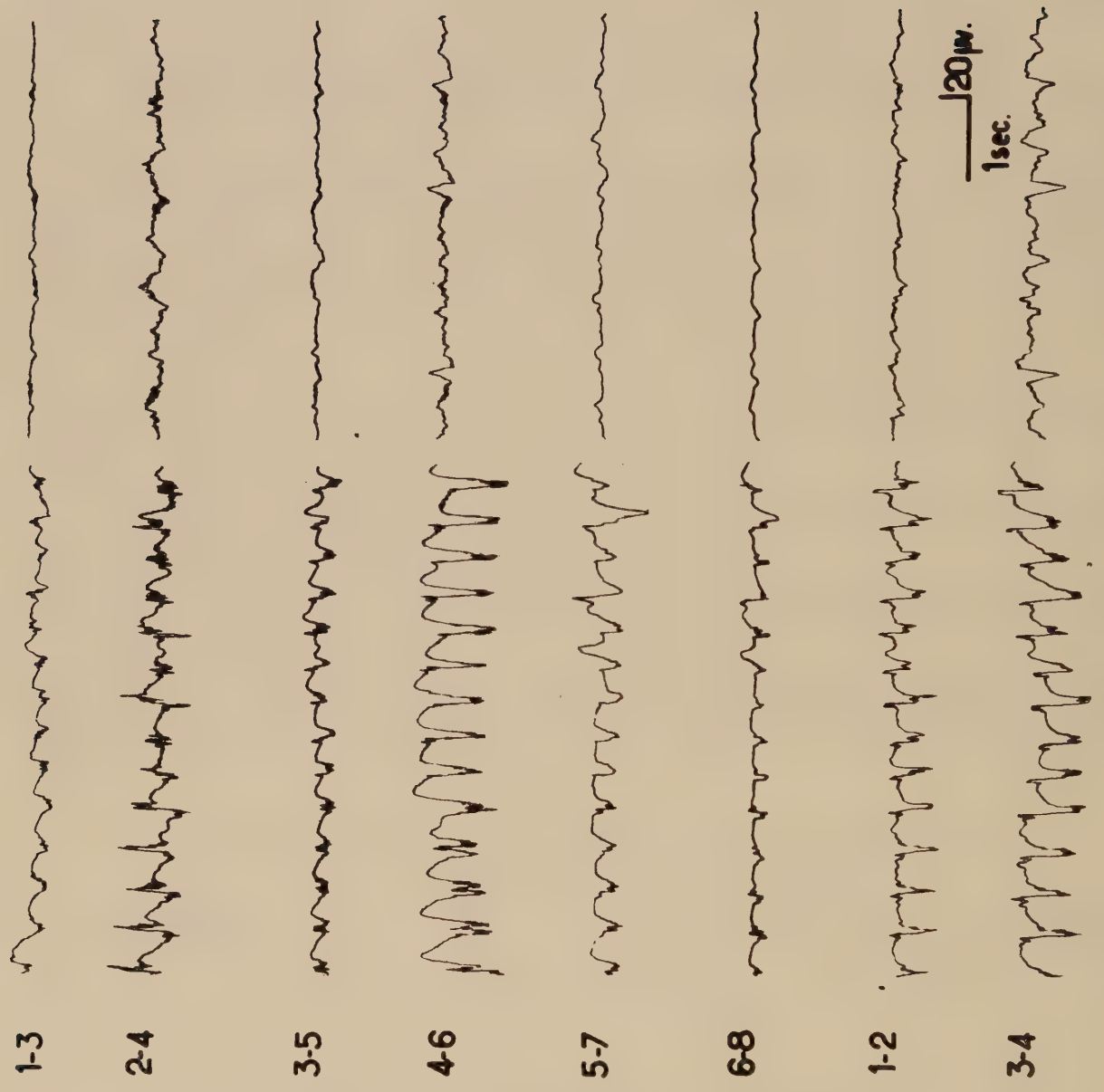


FIG. 31. — Ch 165-2906-1. tracé du 10e jour au cours d'une crise convulsive.
A. pointes-ondes.
B. période de silence E.Co.G.
C. et D. accélération et amplification des pointes-ondes.
E. Ralentissement.

C
D
E
0447

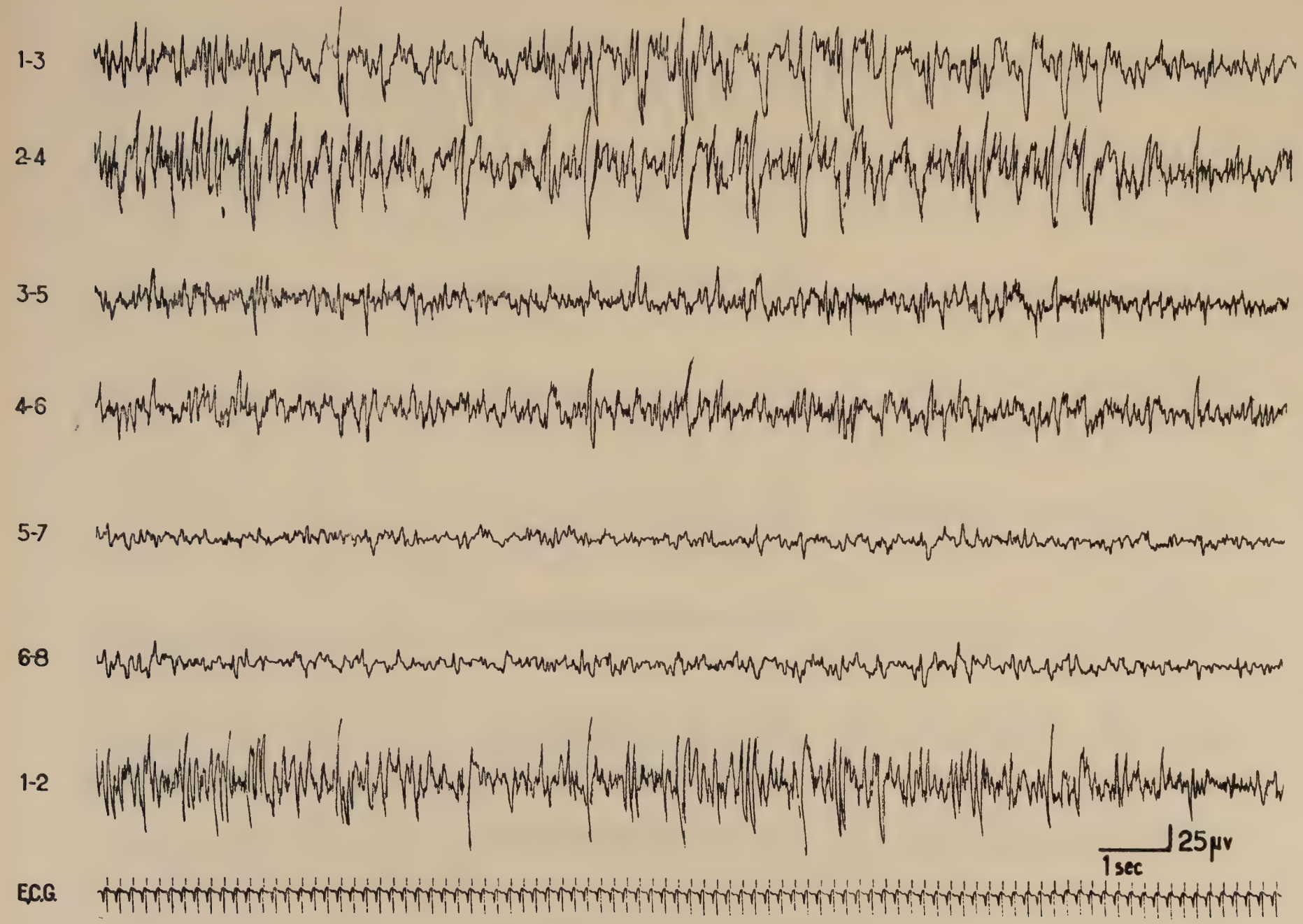


FIG. 32. — MAc 71-2951, enregistrement au 10e jour ; apparition d'éléments paroxystiques sur les dérivations frontales.

Groupe B (25 µg/Kg/j. - pendant 5 jours). — TABLEAU XIV.

Aucun désordre neurophysiologique n'a été relevé dans la portée 4507-2.

En ce qui concerne les activités spontanées, nous avons constaté deux retards de maturation pour les Lapereaux MAc 61-2944, — celui-ci examiné au 9e jour présentait un tracé d'amplitude anormalement faible et de fréquence élevée sans esquisse d'activité en fuseaux pendant le sommeil — et, d'autre part, MAc 66-3067 chez qui les réactions d'éveil ne s'accompagnaient d'aucune projection hippocampique au 11e jour.

Nous devons faire une mention spéciale à propos des animaux de la portée 2827-1, dans laquelle nous avons signalé l'existence d'un hydrocéphale. L'examen neurophysiologique au 11e jour nous a permis de relever chez cet animal (MAc 57) un certain nombre de caractères anormaux dans son tracé E.Co.G. (fig. 33) ; ce tracé d'amplitude normale était particulièrement asymétrique, les fréquences de ses activités étaient très irrégulières et dénuées de synchronisme antéro-postérieur ; de plus, les stimulations douloureuses ne faisaient apparaître aucune réaction d'éveil.

Les frères de cet hydrocéphale examinés ont tous présenté de profondes anomalies E.Co.G. matérialisées par une tendance paroxystique très prononcée, des volées de pointes amples et rapides (10 - 12 c/sec.) apparaissant sur le tracé et se propageant suivant une progression antéro-postérieure (fig. 34) chez les animaux MAc 55 et MAc 56, ou bien, avec des manifestations polymorphes, comme chez le Lapereau Ch 171 (fig. 35) qui a présenté successivement des pointes isolées, des pointes-ondes et des polypointes-ondes rythmiques, des trains de pointes en miroir à localisation frontale et occipitale, ou des bouffées généralisées et synchrones d'ondes lentes, amples et régulières.

Dans la portée 2944, en plus de l'animal déjà cité, qui présentait un retard de maturation, nous avons constaté une fragilité particulière de l'activité électrique corticale de deux animaux MAc 62 bis et 62 ter dont la « mort cérébrale » est survenue brutalement en cours d'expérimentation sans que nous ayons pu l'attribuer à une erreur de manipulation. En outre, le tracé du Lapereau Ch 176 présentait des signes d'activités paroxystiques caractérisés par quelques bouffées de pointes en miroir associées à des trains d'ondes lentes généralisées assimilables aux ondes théta.

Enfin, parmi les animaux de la portée 3067, nous avons retrouvé un tracé pathologique avec bouffées d'ondes amples et rapides (10 - 12 c/sec.) à propagation antéro-postérieure tendant à se généraliser chez l'animal MAc 64 (fig. 36).

Paradoxalement, les activités évoquées enregistrées chez les animaux de la portée qui comptait un hydrocéphale possédaient des paramètres normaux. Nous avons constaté un retard dans la maturation du potentiel évoqué somesthétique chez MAc 61, déjà signalé pour son retard E.Co.G., et chez MAc 64, qui présentait des activités spontanées paroxystiques. Les potentiels évoqués visuels des animaux Ch 176 et 177 - 2944 et Ch 179 - 3067 étaient également affectés d'un retard dans le raccourcissement de leurs latences.

TABLEAU XIV
Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe B.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		EC oG							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
4507-2	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2827-1	4	—	3+1*	—	1*	—	1*	1*	—	—	—	3+1*
2944	6	3		—	—	2	—	—	1	—	2	5
3067	5	—	2 1	1	—	—	—	1	1	—	1	3

* = animaux présentant des anomalies morphologiques.

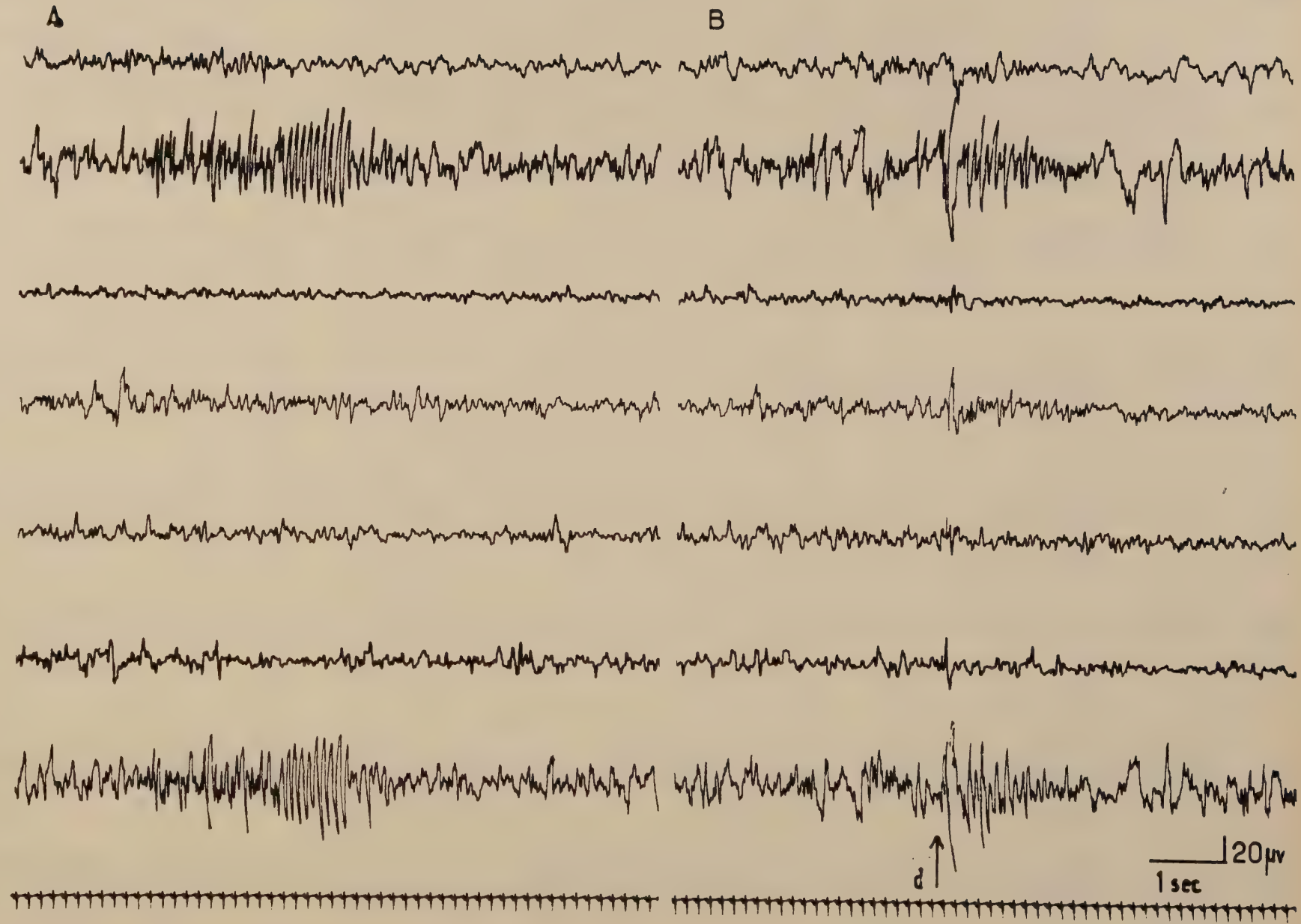


FIG. 33. — MAc 57-2827-1. (hydrocéphale) enregistrement du 11e jour ;
— A. volées de pointes à 10-12 c/sec
— B. absence de réaction d'éveil sous l'influence d'une stimulation douloureuse.

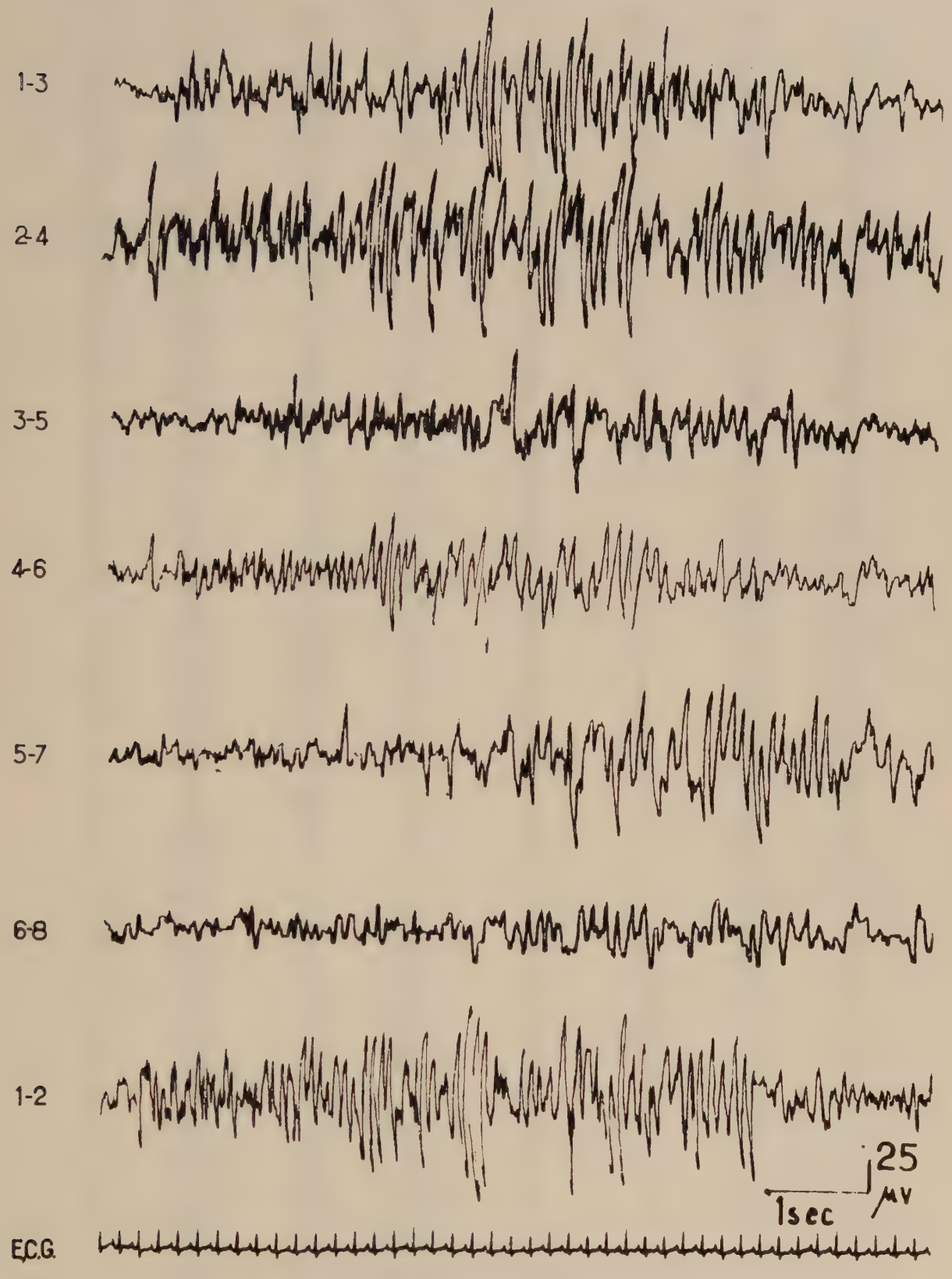


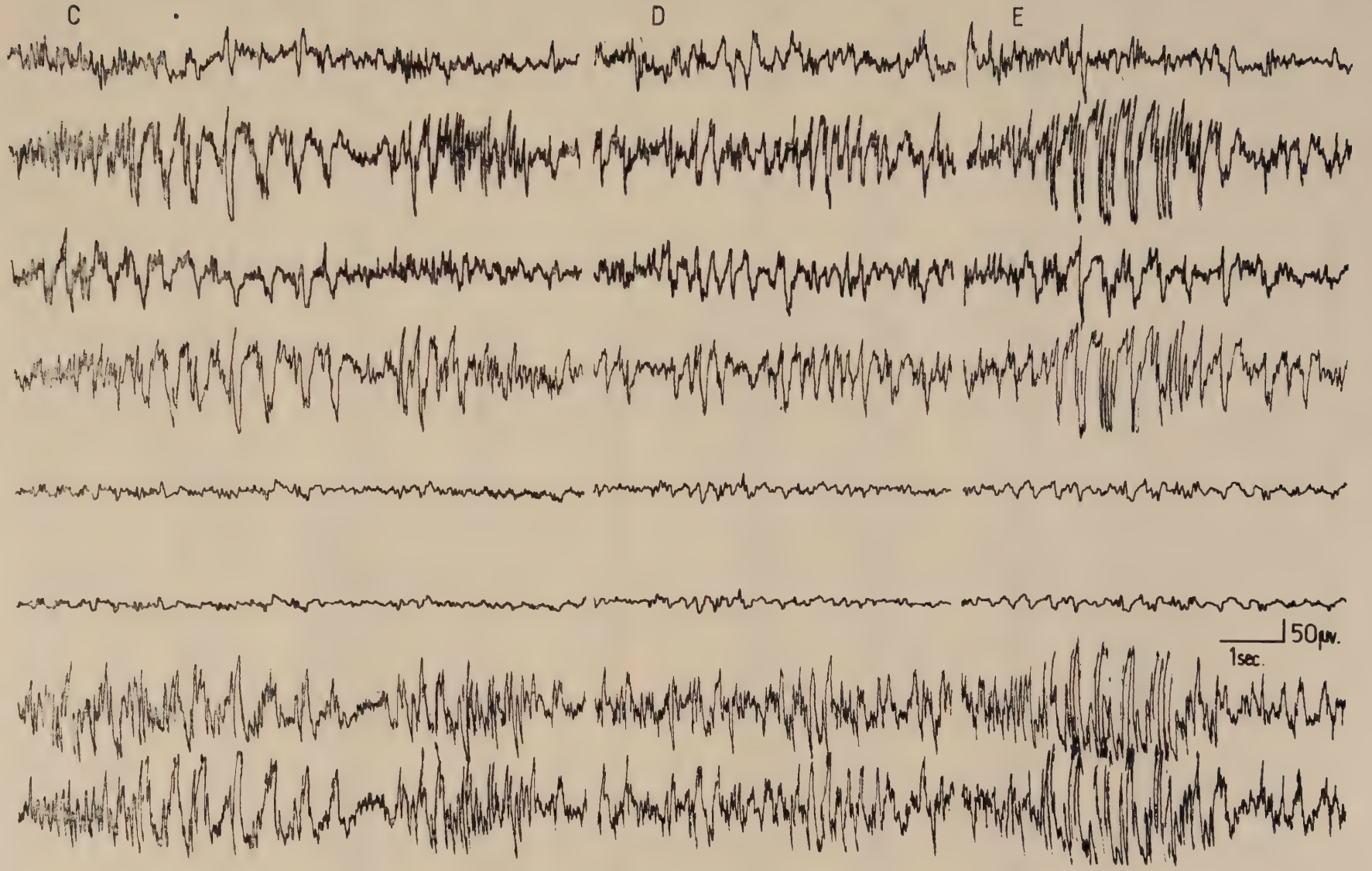
FIG. 34. — MAc 56-2827-1. enregistrement du 8e jour ; bouffées généralisées de pointes à 10-12 c/sec.

FIG. 35. — Ch 171-2827-1.

A. enregistrement du 3e jour, pointes dites « en miroir » apparaissant sur les dérivations frontale et occipitale 2-4 et 5-7.

B. enregistrement du 6e jour, bouffées de pointes rapides à 10-12 c/sec.

C. D. E. enregistrement du 9e jour, crise convulsive généralisée avec successivement, pointes-ondes, bouffées amples et synchrones à 4-6 c/sec., puis polypointes de grande amplitude.


C
D
E
50μv.
1sec.

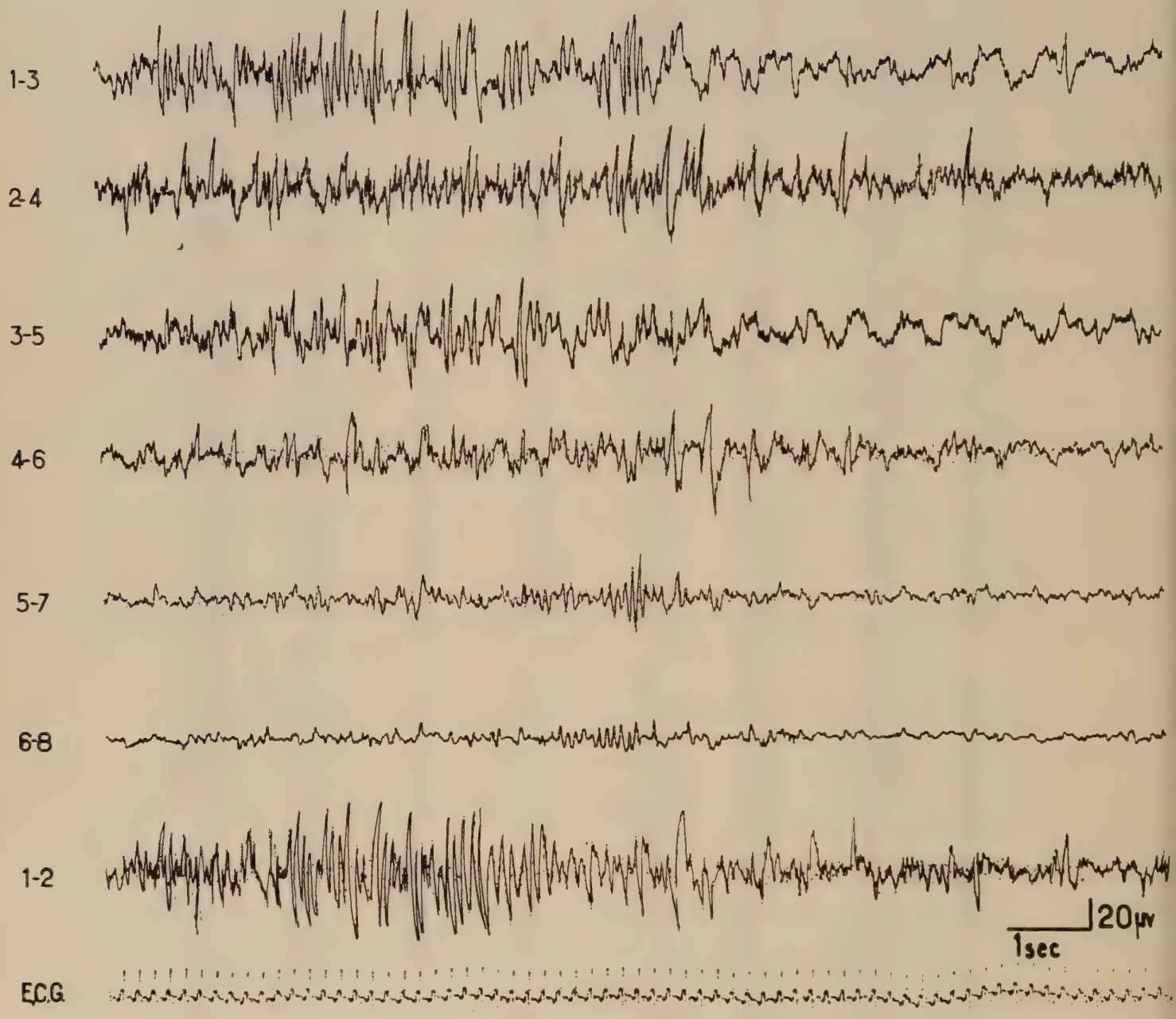


FIG. 36. — MAc 64-3067. enregistrement du 8e jour ;
trains d'ondes rapides (10-12 c/sec.) se propageant dans la direction
antéro-postérieure.

Groupe C (30 µg/Kg/j. - pendant 5 jours). — TABLEAUX XV et XVI.

Aucune anomalie neurophysiologique n'a été relevée dans les portées 2659, 4400 et 4500; d'autre part, les animaux de la portée 3038 n'ont pu être examinés en raison de leur état de dénutrition consécutif à l'abandon par leur mère.

Trois portées de ce groupe comptaient un certain nombre d'animaux présentant des anomalies morphologiques ; nous exposerons en premier lieu les résultats E.Co.G. de ce lot :

— le Lapereau Ch 15-4100 dont nous avons signalé la malformation assimilable à un « pied-bot », présentait, pendant les 11 premiers jours un retard de maturation qu'il a progressivement « rattrapé » sur le plan des activités spontanées. Deux des frères de cet animal ont présenté le même retard, d'environ 2 à 3 jours (Ch 14 et MAc 13), et l'ont conservé jusqu'au dernier jour d'enregistrement (soit le 15e jour pour le Ch 14), tandis que le Ch 13 semblait parfaitement normal sur le plan E.Co.G. ;

— nous avions par ailleurs détecté tardivement un certain nombre d'anomalies du squelette chez l'un des lapereaux de la portée 2826-1 ; cet animal n'ayant pas été examiné sur le plan neurophysiologique, nous possédons seulement les résultats concernant 3 de ses frères ; un seul d'entre eux (Ch 61) présentait une maturation anormale des activités spontanées — qu'il a d'ailleurs compensée vers le 12e jour ;

— l'analyse des activités E.Co.G. des Lapereaux nés « sans paupières » (2615-1) nous a permis de détecter, à côté de retards de maturation (MAc 32, Ch 70 bis, 74 et 76), l'existence d'éléments pathologiques dans les tracés des animaux MAc 30 et Ch 74 sous la forme de pointes rapides et amples réparties sur l'ensemble des dérivations ;

— enfin, le Lapereau MAc-8-4557 dont les méninges étaient pigmentées, examiné au 11e jour, n'a présenté aucune activité théta sur les dérivations occipitales pendant les périodes d'éveil. L'observation E.Co.G. d'un second animal dans cette portée n'a révélé aucune anomalie.

Parmi les animaux apparemment indemnes sur le plan morphologique, nous avons également constaté des retards de maturation E.Co.G. En particulier les Ch 33 - 34 - 35 - 2769 enregistrés du 3e au 12e jour ont conservé un tracé de faible amplitude dont la différenciation antéro-postérieure était imprécise et les activités de sommeil dénuées de fuseaux et d'ondes lentes, seul le Ch 36 a suivi une évolution normale.

Il en a été de même dans les portées :

— 2741, où tous les animaux ont présenté un retard de maturation de 24 à 48 heures, compensé vers le 14e jour dans un seul cas (Ch 37) sur le plan E.Co.G. ;

— 2730-1, où 2 sur 3 des animaux examinés (Ch 45 et 47) avaient un retard de maturation de 2 à 3 jours ;

— 2730 - 2, où les 6 Lapereaux observés en montages aigus ou chroniques étaient également retardés, un seul d'entre eux (Ch 81) a compensé ce retard ; et où nous avons noté, en outre, une profonde dépression de l'activité corticale sans raison apparente pour MAc 35 ;

— 4501 - 1, dans laquelle deux animaux étaient particulièrement affectés MAc 1 (fig. 37) pour l'amplitude et la morphologie de son tracé, et MAc 2 chez qui l'injection au 12e jour d'une forte dose de strychnine (1 mg pour 130 g) a été insuffisante pour faire apparaître le rythme théta classiquement induit par cet agent pharmacologique ;

— 4504, pour les Lapereaux MAc 6 et 7 ;

— 3053 - 1, dans laquelle nous avons observé un nouveau cas de dépression irréversible de l'activité bio-électrique chez l'animal MAc 41 ; cet animal présentait en outre le même retard de maturation E.Co.G. que ses frères MAc 40 et Ch 120 bis ; au contraire, les tracés des Ch 120 et 121 étaient d'apparence normale.

En plus de ces retards dans l'apparition des éléments matures, quelques animaux de ce groupe ont manifesté des tendances convulsives à différents degrés. Notamment les Lapereaux MAc 25 et Ch 59 - 2821, MAc 45 et Ch 162 - 2826 - 2 et Ch 121 bis - 3053 - 1, dans les tracés desquels nous avons relevé la présence de pointes et de bouffées d'ondes théta généralisées.

L'étude des activités évoquées nous a permis de déceler d'autres anomalies.

Parmi les animaux nés dans les portées où l'actinomycine avait eu parfois un effet sur leur morphologie, certains, comme MAc 30 - 2615 - 1 avaient des potentiels évoqués de latence particulièrement grande (27 msec. au 9e jour, soit un retard d'environ 5 jours), et très fatigables, l'amplitude du phénomène étant abaissée respectivement à 30 et 25 % de sa valeur initiale pour des fréquences de stimulation de 0,5 et 1/sec. (au même âge nous avons

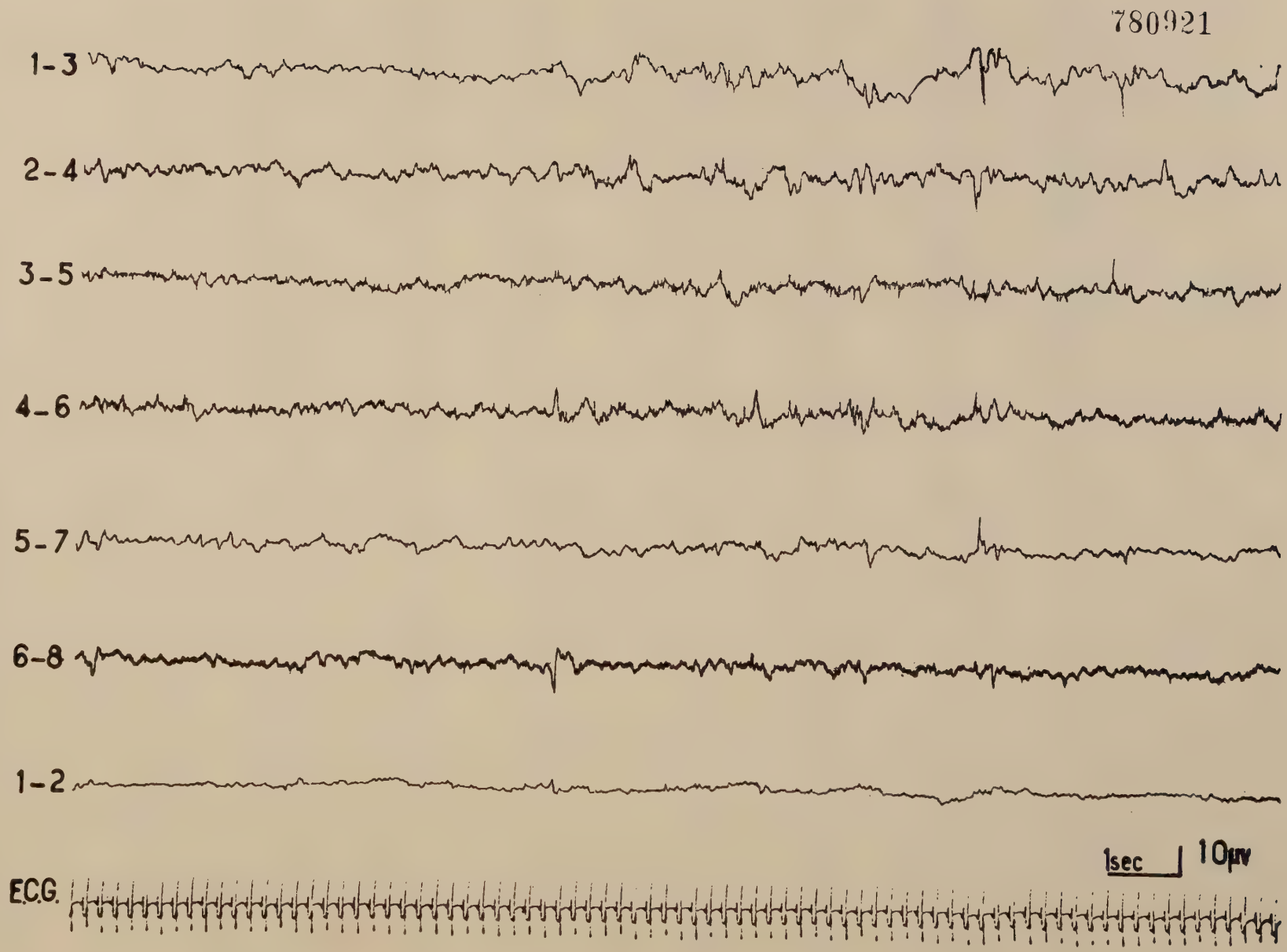


FIG. 37. — MAc 1-4501-1. enregistrement du 6e jour ; tracé de faible amplitude sans différenciation antéro-postérieure.

vu que l'abaissement normal d'amplitude correspondait en moyenne à 70 et 60 % pour les mêmes fréquences de stimulation).

Parallèlement, l'enregistrement des potentiels évoqués visuels et somesthésiques des animaux Ch 60 et 61 - 2826 - 1 nous a confirmé l'immaturité de ces deux Lapereaux, toutefois, le Ch 61 a partiellement compensé ce retard en ce qui concerne les réponses visuelles.

Dans le même lot, les Lapereaux MAc 32-2615 - 1, et MAc 8 - 4557 ont également présenté des potentiels évoqués somesthésiques relativement immatures.

Il en a été de même parmi les animaux apparemment indemnes, et nous citerons notamment le Lapereau Ch 37 - 2741 dont nous avons signalé le retard E.Co.G. compensé, chez qui les activités évoquées par stimulation somatique ont conservé un retard approximatif de 2 jours, au même degré que son frère MAc 16.

L'ensemble des réponses évoquées de MAc 33 (fig. 38) et MAc 34 - 2730 - 2, MAc 1 et 2 - 4501 - 1 (fig. 39 et 40) étaient également immatures.

Enfin les réponses somesthésiques des Lapereaux MAc 7 - 4504, MAc 45 - 2826 - 2, MAc 40 et 41 - 3053 - 1 présentaient un retard de maturation d'environ 2 à 3 jours.

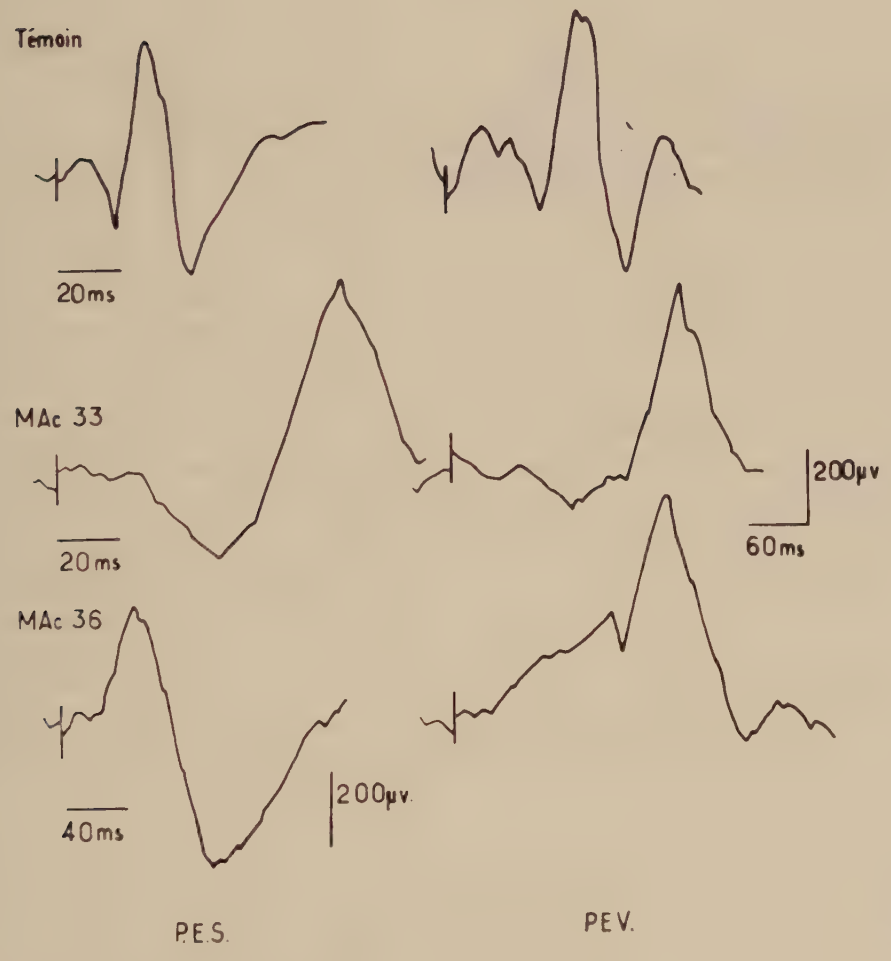


FIG. 38
MAc 33-2730-2. :
PES. CL. et PEV. au 9e jour.
MAc 36-2689-2 :
PES. CL. et PEV. au 9e jour.

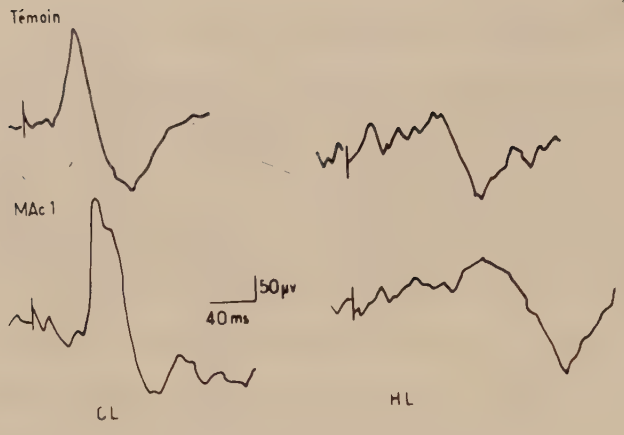


FIG. 39. MAc 1-4501-1. PES. CL. et HL. au 6e jour.

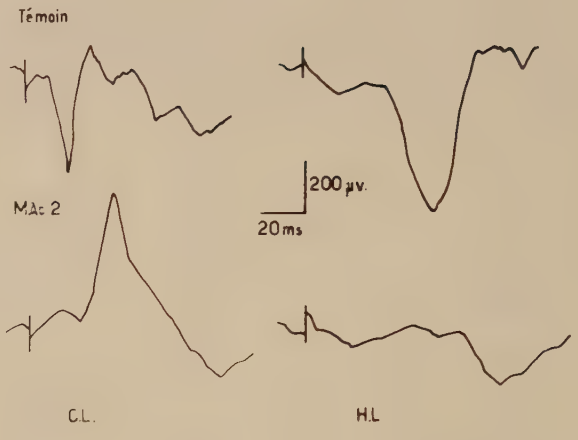


FIG. 40. MAc 2-4501-1. PES. CL. et HL. au 11e jour.

TABLEAU XV

Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe C.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		EC oG							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
4400	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4100	3+1★	2+1★	2+1★	1	—	—	—	1	—	—	—	2+1★
2659	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4500	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2769	4	3	3	3	—	—	—	—	—	—	—	3
2741	4	3	4	1	—	—	—	3	2	—	—	4
2730-1	3	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	2
2730-2	6	4	3	2	—	1	1	4	1	1	2	6
2821	2	2	2	1	1	—	—	—	—	—	—	2
2826-1	3	—	1	—	—	—	—	1	2	—	2	2
4501-1	2	1	1	1	—	2	1	1	2	2	—	2
2615-1	6★	2★	4★	1★	—	1★	—	3★	2★	—	—	5★
4504	2	2	2	—	—	1	—	—	1	—	—	2
4557	1+1★	—	—	—	—	—	—	1★	1★	—	—	1★
2826-2	2	—	2	—	—	—	—	—	1	—	—	2
3053-1	6	2	3	2	—	—	—	—	2	1	—	4

* = animaux présentant des anomalies morphologiques.

Comme nous l'avons fait précédemment pour dénombrer les malformations morphologiques, nous avons établi le bilan de l'expérimentation électrophysiologique de ce groupe en pourcentages d'animaux ayant présenté des anomalies dans leurs activités corticales spontanées ou évoquées (TABLEAU XVI).

Après avoir soustrait de ce calcul les animaux morphologiquement atteints par l'actinomycine, nous voyons qu'une importante proportion est frappée d'anomalies neurophysiologiques plus ou moins graves : 70 % dans lesquels entrent en particulier 11 % de cas convulsifs ou pré-convulsifs (5 cas parmi les animaux morphologiquement normaux, 7 cas en tout).

Parmi les animaux relativement nombreux qui étaient atteints de retards de maturation, seule une faible fraction (2 animaux) a recouvré ce retard pendant la période d'observation généralement étendue aux 15 - 16 premiers jours de la vie.

TABLEAU XVI

Répartition en % des anomalies neurophysiologiques observées sur le groupe C, rapportées au nombre total des animaux examinés et au nombre d'animaux morphologiquement normaux

	Animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Total animaux anormaux
		EC oG							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
Nombre	52	22	30	14	1	5	2	14	14	4	4	38
% global		42 %	58 %	27 %	2 %	10 %	4 %	27 %	27 %	8 %	8 %	73 %
Nb parmi les morph normaux	44	19	25	13	1	4	2	10	11	4	4	31
% partiel		43 %	57 %	30 %	2 %	9 %	5 %	23 %	25 %	9 %	9 %	70 %

Groupe D (35 µg/kg/j pendant 5 jours. — TABLEAU XVII

Leur mère les ayant abandonnés, les Lapereaux de la portée 2827 n'ont pas été examinés en raison de leur état de dénutrition.

Comme pour les groupes précédents, nous traiterons tout d'abord des résultats concernant la portée 2677 - 1, qui comptait un hydrocéphale et un cas de subluxation de la patte.

L'hydrocéphale (MAc 29) possédait une activité bio-électrique spontanée profondément perturbée : amplitude faible, tracé inorganisé, particulièrement pendant le sommeil (fig. 41), différenciation antéro-postérieure souvent confuse, absence de projection des activités théta pendant l'éveil.

Au contraire, le Ch 69, porteur de la malformation des articulations tibio-tarsiennes, a présenté un tracé E.Co.G. normal.

Nous avons en outre relevé des anomalies chez les deux autres Lapereaux examinés dans cette portée : l'important retard de maturation (environ 3 à 4 jours) présenté par le Ch 72 s'est progressivement estompé pour s'annuler vers le 14e jour, cependant que le tracé de MAc 31 enregistré au 17e jour était demeuré profondément immature.

L'analyse des tracés obtenus chez les animaux indemnes sur le plan morphologique nous a également permis de déceler diverses anomalies ; d'une part, sous la forme de retards dans l'apparition des éléments matures : pour MAc 36 et Ch 82 - 2689 - 2, il correspondait à 2 à 3 jours, tandis que les tracés de leurs frères MAc 37 et Ch 83 étaient normaux.

D'autre part, sous la forme d'éléments paroxystiques qui ont constitué le plus grand nombre de troubles observés dans ce groupe (9 cas parmi les 20 animaux examinés) ; dans les différentes portées, nous avons observé :

— des pointes en miroir particulièrement nettes sur les dérivations pariétales et occipitales de MAc 42 et Ch 130 - 2882 - 1 (fig. 42), ainsi que des bouffées de pointes rapides à 10 - 12 c/sec. chez leur frère Ch 133, tandis que le Ch 134 était parfaitement normal ;

— les mêmes bouffées de pointes rapides associés à des ondes à 4 - 6 c/sec. amples et généralisées chez MAc 47 et Ch 164 alors que le tracé de MAc 48, dans la même portée (2882 - 2), ne présentait aucune anomalie ;

— enfin, dans la portée 3018, un seul animal (MAc 44) possédait un tracé E.Co.G. normal, contrairement aux quatre autres Lapereaux chez qui nous avons noté l'existence de bouffées de points amples et rapides à 10-12 c/sec. généralisées (MAc 43 - Ch 154 et 155) ou des pointes en miroir localisées, associées à des trains d'ondes théta généralisées (Ch 153).

En ce qui concerne les activités évoquées, signalons tout d'abord, dans la portée 2677 - 1, frappée d'anomalies morphologiques, la longue latence de la réponse somesthésique de MAc 29 — hydrocéphale — : 36 msec au 10e jour (fig. 43), associée à une très grande fatigabilité de sa phase positive initiale ; dans la même portée, la latence du potentiel évoqué visuel du Ch 72 était allongée (68 msec au 11e jour).

Dans les portées morphologiquement normales, le retard de maturation des activités spontanées constaté dans la portée 2689 - 2 s'est trouvé confirmé lors de l'interprétation des réponses somesthésiques et visuelles chez MAc 36 (fig. 38, page 92) et MAc 37 (fig. 44), sans qu'il en soit de même pour leurs frères Ch 82 et 83.

Seuls les Lapereaux MAc 42 et Ch 130 - 2882 - 1, parmi tous ceux qui ont manifesté des activités paroxystiques préconvulsives, présentaient des allongements significatifs des latences de leurs réponses évoquées somesthésiques. Par ailleurs, les fatigabilités des potentiels somesthésiques des Ch 153 et 154 - 3018 étaient anormalement grandes.

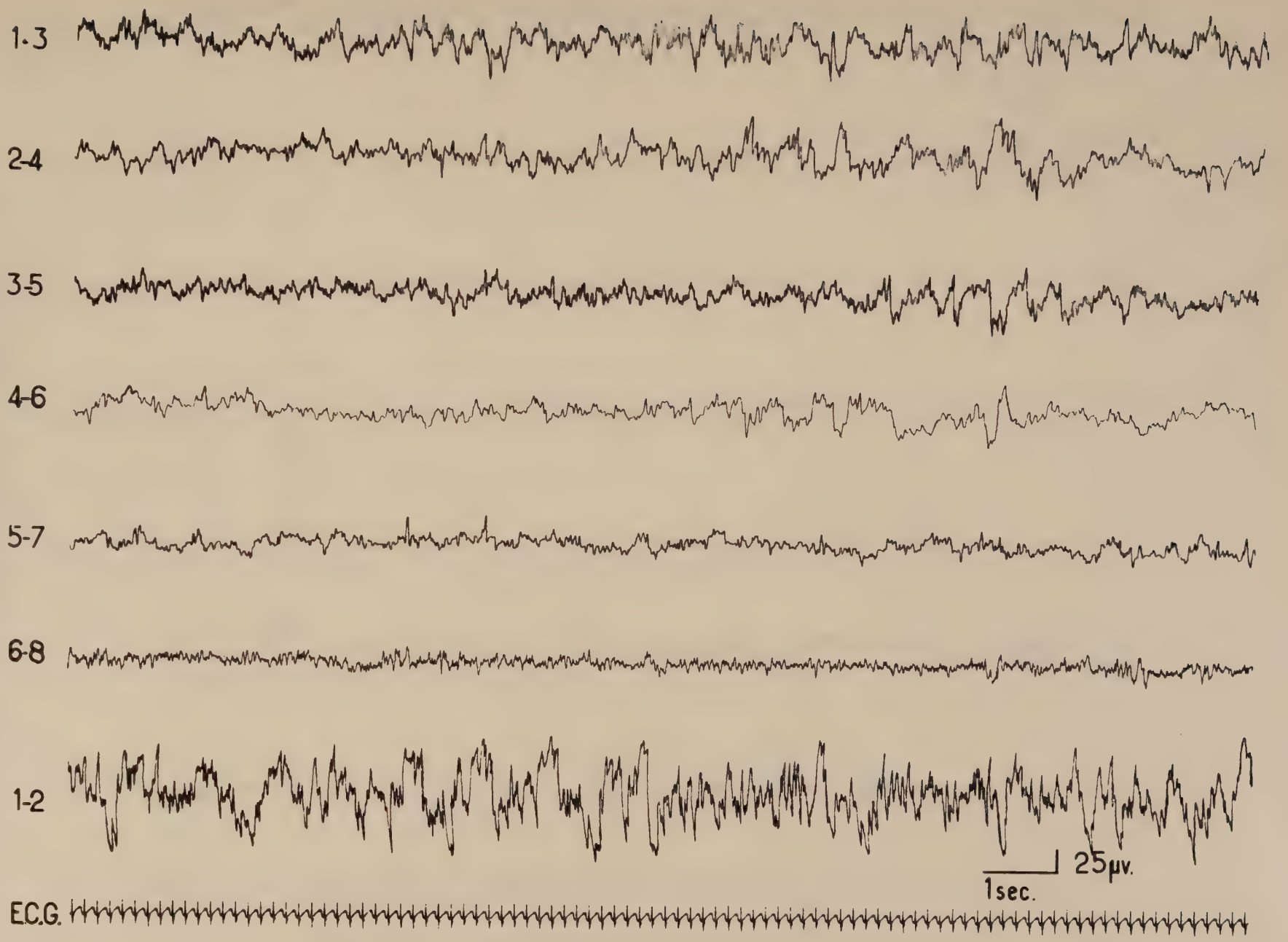


FIG. 41. — MAc 29-2677-1. (hydrocéphale) enregistrement du 10e jour ; amplitude faible, absence de fuseaux, asynchronisme.

FIG. 42. — Ch 130-2882-1. enregistrement du 4e jour ;
pointes en miroir à 10-12 c/sec. sur les dérivations pariétales et occipitales.

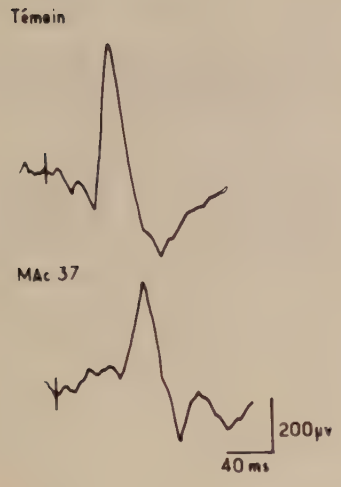


FIG. 43. — MAc 29-2677-1. 10e jour ; — hydrocéphale — PES. CL.

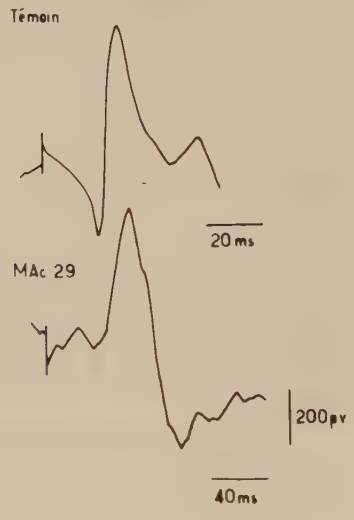


FIG. 44. — MAc 37-2689-2. 13e jour ; P.E.V.

TABLEAU XVII

Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe D.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		EC oG							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
2677-1	2+2★	1+1★	2+1★	1★	—	1+1★	1★	1+1★	1★	—	1	2+1★
2689-2	4	2	2	1	—	1	—	1	1	1	2	3
2882 1	4	—	3	—	—	—	—	1	2	—	—	3
2882-2	3	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2
3018	5	—	4	1	—	1	—	1	2	—	—	4

Groupe E (40 µg/Kg/j. pendant 5 jours). — TABLEAU XVIII.

Nous n'avons examiné sur le plan neurophysiologique qu'un faible nombre d'animaux en raison de l'avortement (4506-1) et de la mort d'une portée entière à la naissance (4507-1) sur les 5 portées étudiées.

Nous avons néanmoins mis en évidence des retards de maturation des activités spontanées de l'ordre de 2 à 3 jours pour MAc 23 et 24 - 4509 - 2 ; un seul des Lapereaux 4510 - 1 présentait un retard similaire ; de même, la morphologie et l'amplitude des tracés du Ch 19 - 4505 1 étaient affectées tandis que chez son frère MAc 10 la seule anomalie résidait en l'absence de projection corticale d'activités hippocampiques malgré l'administration de strychnine (2 mg/Kg).

Seuls, les potentiels évoqués somesthésiques de MAc 23 et 24 (4509 - 2) et de MAc 11 (4510 - 1) possédaient des latences significativement allongées par rapport aux témoins.

TABLEAU XVIII

Résumé des observations neurophysiologiques du groupe E.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		E.Co.G.							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
4509-2	2	1	2	1	—	—	—	1	2	2	—	2
4510-1	2	1	1	—	—	—	—	—	1	—	—	1
4505-1	2	1	1	1	—	—	—	1	—	—	—	2

De même que nous avions établi un bilan des anomalies morphologiques regroupant les observations concernant les Lapereaux issus de mères traitées du 7e au 11e jour (Tableau VII, p. 61), nous avons rassemblé les résultats électrophysiologiques correspondants dans le tableau XIX, en les exprimant en pourcentages d'anomalies rencontrées soit dans l'ensemble des animaux, soit dans la fraction représentée par les animaux exempts de malformations morphologiques.

De plus, afin de juger de la répartition des anomalies suivant leur intensité, nous les avons transcrites sous forme d'un diagramme (fig. 49 et 50, p. 109) en tenant compte du mode d'appréciation que nous avons décrit en introduction à ce chapitre.

Nous nous proposons d'en faire le commentaire détaillé lors de la discussion générale de ces résultats, après avoir exposé, dans les pages suivantes, les observations se rapportant aux Lapereaux des groupes F, G, H et I, issus de mères traitées au 9e jour de leur gestation.

TABLEAU XIX

Répartition en % des anomalies neurophysiologiques observées sur les groupes A., B., C., D. et E, rapportées au nombre total des animaux examinés et au nombre d'animaux morphologiquement normaux.

	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		E.Co.G.							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
Nombre total	111	39	63	22	2	13	4	25	29	8	11	81
% global		35 %	57 %	20 %	2 %	12 %	4 %	23 %	26 %	7 %	10 %	72 %
Nb. Anx. normaux	100	35	56	20	1	11	2	19	25	8	11	72
% partiel		35 %	56 %	20 %	1 %	11 %	2 %	19 %	25 %	8 %	11 %	72 %

Groupe F (40 µg/Kg au 9e jour). — TABLEAU XX.

Seules trois portées ont été soumises à l'examen neurophysiologique, tous les Lapereaux de la portée 2827 - 2 étant décédés à la naissance.

Dans la portée 2859, où nous avons signalé une malformation des membres, nous n'avons pu examiner le sujet anormal puisqu'il a été tué par sa mère, cependant chez les deux Lapereaux MAc 49 et MAc 50, qui subsistaient, nous avons enregistré des manifestations pathologiques d'ordre paroxystique sous la forme de trains d'ondes rapides à 10 - 12 c/sec, amples, et de rythme théta, l'un et l'autre généralisés, tandis que les stimulations photiques faisaient apparaître, en outre, des bouffées d'ondes lentes et amples à 3 c/sec.

Aucune autre anomalie morphologique n'était survenue dans ce groupe. Il en a été de même sur le plan E.Co.G. pour la portée 3070.

Par contre, un seul animal (Ch 175) parmi les 7 Lapereaux examinés dans la portée 2883 s'est révélé normal. Nous avons en effet constaté 2 retards de l'ordre de 2 à 3 jours dans la maturation des activités spontanées de MAc 58 et 59 et, d'autre part, des manifestations convulsives polymorphes (fig. 45) particulièrement intenses chez MAc 60, Ch 172, 173 et 174.

Seules les activités évoquées des Lapereaux de cette même portée 2883 étaient affectées : tout d'abord celles de MAc 58 et 59 déjà signalés pour leur retard E.Co.G., et de plus, celles de MAc 60 (fig. 46) chez qui la latence du potentiel évoqué visuel était sensiblement égale à celle d'un animal témoin de 4 à 5 jours plus jeune.

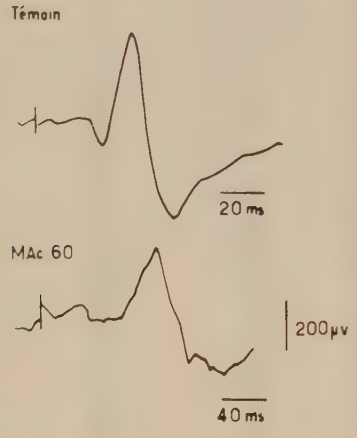


FIG. 46. — MAc 60-2883, 11e jour — PEV.

TABLEAU XX

Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe F.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		E.Co.G.							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
2859	2	—	2	—	—	2	—	—	—	—	—	2
2883	7	2	4	2	—	1	—	2	2	—	3	6
3070	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

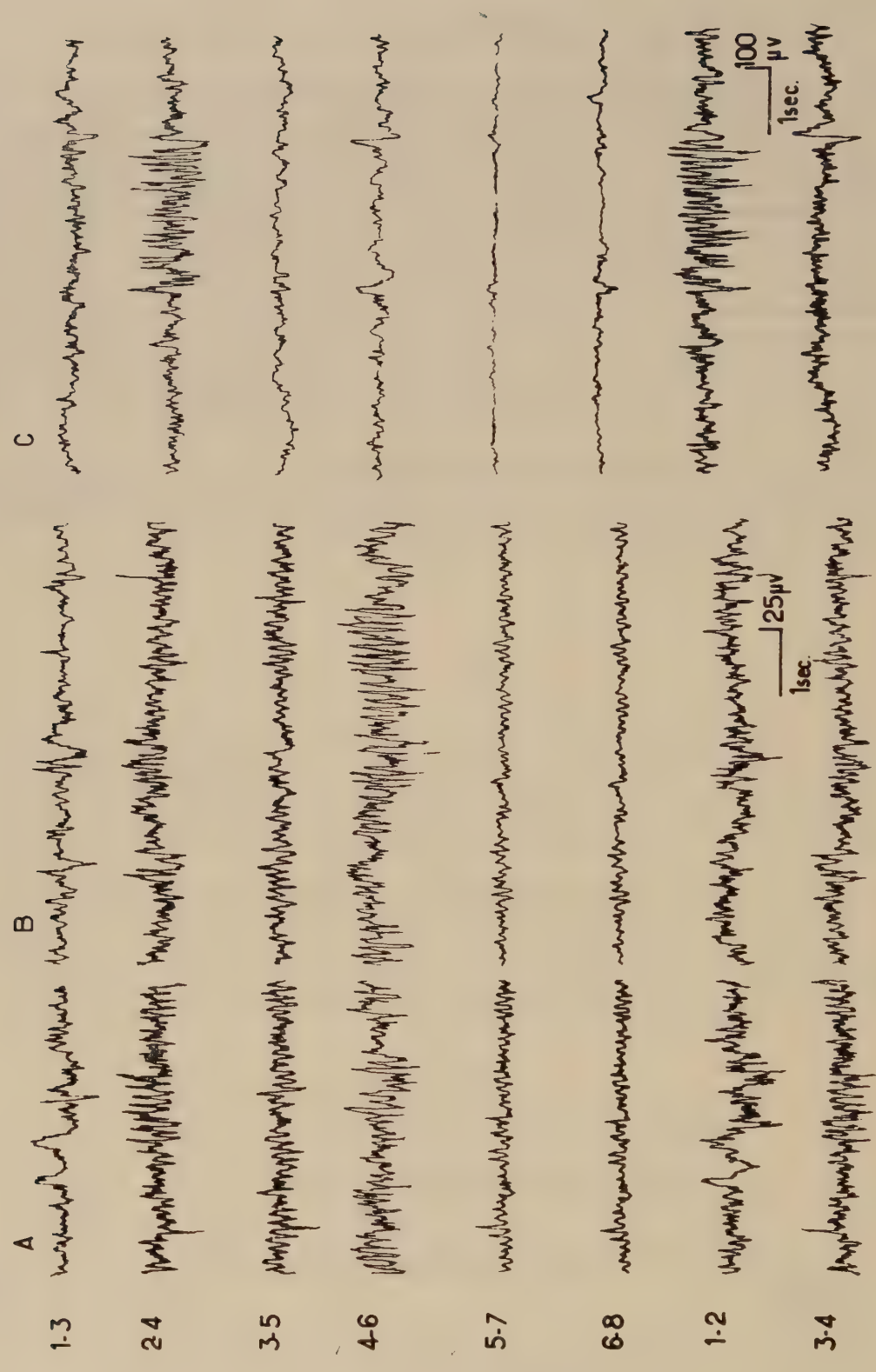


FIG. 45. — Ch 172-2883. enregistrements :
A. et B. au 4e jour, pointes rapides (8-9 c/sec) sur les dérivations antérieures et pariétales.
C. persistance des pointes et accélération au 9e jour.
D. au 9e jour, pointes-ondes sur les dérivations antérieures.
E. au 17e jour, pointes en longues bouffées synchrones (8-9 c/sec.).

D
E
100μv
1sec.
100
μv.
1sec.

Groupe G (50 µg/Kg au 9e jour). — TABLEAU XXI.

Ce groupe expérimental a été également réduit du fait de l'avortement de la portée 2906-2.

L'examen des activités spontanées des survivants, apparemment tous normaux sur le plan morphologique, ne nous a permis de déceler qu'un nombre relativement faible d'anomalies.

Aucun des deux Lapereaux examinés dans la portée 4506-2 n'en a présenté.

Trois sur cinq des Lapereaux examinés dans la porté 2710 ont présenté des retards de maturation E.Co.G. relativement importants (3 à 4 jours pour Ch 27) mais deux d'entre eux ont recouvré ce retard entre le 10e et le 12e jour (Ch 26 et 28).

Enfin, si l'on excepte le Ch 170 qui a présenté un retard transitoire de maturation E.Co.G., seul MAc 53 parmi les 6 Lapereaux de la portée 2952 avait des troubles d'activité spontanée, nous avons en effet enregistré de longues périodes de rythmes théta très amples envahissant l'ensemble des dérivations.

En ce qui concerne les réponses évoquées, nous n'avons décelé que trois cas d'allongement de la latence du potentiel évoqué somesthésique contralatéral : MAc 53 et 54, ainsi que Ch 168, tous appartenant à la portée 2952.

TABLEAU XXI

Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe G.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		E.Co.G.							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
2710	5	3	3	—	—	—	—	2	—	—	—	3
4506-2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2952	6	2	2	—	—	—	—	—	3	—	—	4

Groupe H (60 µg/Kg au 9e jour). — TABLEAU XXII.

Nous traiterons tout d'abord des activités spontanées de la portée 4559 étant donné la déformation du squelette axial, suivie d'une paralysie partielle qui ont frappé l'un de ses Lapereaux : MAc 5 bis.

Celui-ci présentait, comme ses frères MAc 4 et 5, un tracé riche en activités paroxystiques telles que nous en avons déjà rencontré un certain nombre : pointes en miroir sur un fond d'activité de faible amplitude, trains de pointes rapides à 10-12 c/sec.

Parmi les autres portées, toutes indemnes sur le plan morphologique, deux se sont révélées également exemptes d'anomalies neurophysiologiques : 4510-2 et 2689.

Nous avons relevé par ailleurs des retards de maturation des activités spontanées chez MAc 9 et MAc 9 bis - 4501 - 2, de même dans la portée 4511 - 2 qui comptait, outre le Ch 94 parfaitement normal, deux animaux retardés d'environ 3 à 4 jours ; ce retard était associé, dans un cas (MAc 38), à des éléments paroxystiques sous la forme de pointes rapides à 10 - 12 c/sec.

Deux des 7 Lapereaux examinés dans la portée 3053 - 2 ont présenté des E.Co.G. normaux, tandis que les 5 autres furent sujets à des manifestations paroxystiques. Ces éléments anormaux étaient, suivant le cas, rapides (MAc 65 - Ch 180 et 182) ou lents (Ch. 181) ; nous avons noté la propagation particulièrement inte nse d'ondes assimilables au rythme théta sur le tracé de MAc 69 (fig. 47).

796085

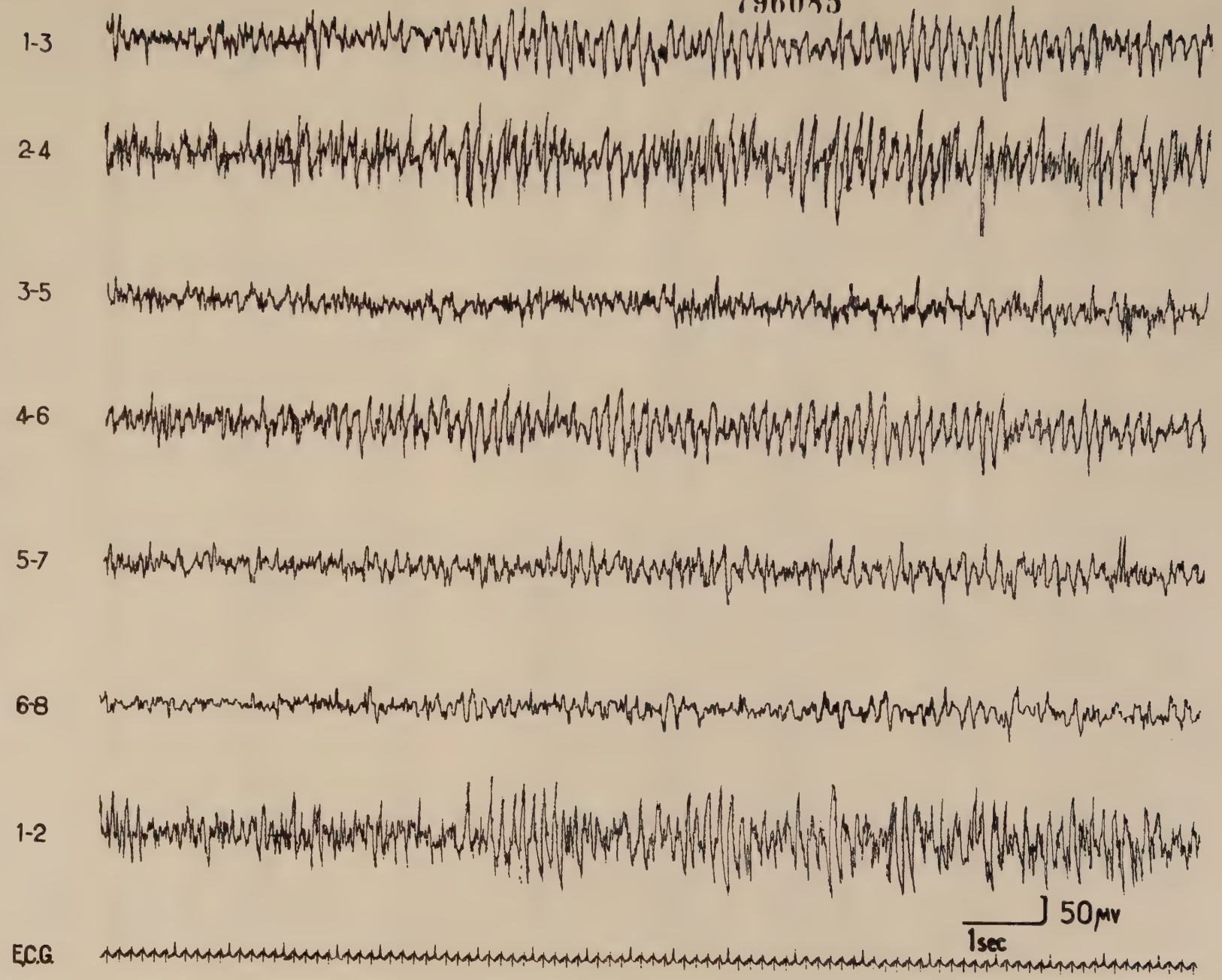


FIG. 47. — MAc 69-3053-2. enregistrement du 11e jour ; trains d'ondes théta généralisés (7 c/sec.).

De plus, les Lapereaux Ch 180 et 181 ont présenté, en association avec ces éléments pathologiques, un retard de maturation E.Co.G. relatif à l'apparition des fuseaux de sommeil et à la différenciation antéro-postérieure de leurs tracés, mais ce retard a été progressivement compensé entre le 11e et le 14e jour.

Enfin, aucun des Lapereaux examinés dans la portée 4513 n'a été épargné, soit qu'ils aient été affectés de retards de maturation : MAc 19 - MAc 21 (fig. 48) et Ch 20, soit qu'ils aient présenté des activités paroxystiques sous la forme d'ondes théta rythmiques généralisées : MAc 20 et 22.

Dans ce même groupe, les réponses évoquées ont été également affectées dans quelques cas.

En particulier, dans la portée 4559 (comptant un animal malformé) pour un seul Lapereau : MAc 5.

Par ailleurs ,nous avons relevé dans les portées exemptes de malformation, les anomalies suivantes :

— les potentiels évoqués somesthésiques de MAc 38 et MAc 39 - 4511-2, déjà mentionnés pour leur retard E.Co.G., présentaient des latences nettement supérieures à la normale et une très grande sensibilité aux épreuves de fatigabilité ;

— le retard E.Co.G. s'est confirmé par la longueur des latences des réponses somesthésiques chez un seul animal (MAc 9 bis) de la portée 4501 - 2 ;

— de même, dans la portée 3053 - 2 parmi les Lapereaux dont l'E.Co.G. était normal, MAc 68 présentait au 9e jour des réponses somesthésiques contralatérales sans phase positive et précédées d'une latence particulièrement grande (34 msec au lieu de 22 ± 3 msec pour la phase négative chez les animaux témoins) ;

— enfin, MAc 20 et 21 - 4513 ont présenté des allongements de latence correspondant à 24 - 48 heures de retard de maturation.

TABLEAU XXII

Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe H.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		E.Co.G.							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
4510-2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4511-2	3	1	2	2	1	2	—	1	2	—	—	2
4501-2	2	2	2	2	—	—	—	—	1	1	—	2
4559	2+1*	1	2+1*	1	—	—	—	—	1	—	—	2+1*
2689-1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3053-2	7	—	5	2	—	1	—	—	1	1	—	6
4513	5	2	5	2	1	2	—	2	2	—	—	5

FIG. 48. — MAc 21-4513. enregistrement du 15e jour ;
retard dans l'apparition des fuseaux de sommeil, absence de projection corticale du rythme théta lors des stimulations douloureuses (S).

GROUPE I (80 µg/Kg au 9e jour). — TABLEAU XXIII

Aucun des 5 Lapereaux examinés dans la portée 4509 - 1 n'a présenté de trouble au cours des enregistrements d'activités corticales spontanées ou évoquées.

Parmi les 3 Lapereaux de la portée 2700 - 1 qui ont subi l'expérimentation, l'un était également normal (Ch 12), tandis que les E.Co.G. du Ch 10 comportaient des épisodes convulsifs avec pointes-ondes et ceux du Ch 11 examiné jusqu'au 14e jour, des tracés de faible amplitude aux activités inorganisées, exempts de rythmes théta occipitaux lors des réactions d'éveil.

Aucun des paramètres des potentiels évoqués des animaux de ce groupe n'était perturbé.

TABLEAU XXIII

Résumé des observations neurophysiologiques concernant le groupe I.

Portée	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		E.Co.G.							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
4509-1	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2700-1	3	2	2	—	—	—	—	1	—	—	—	2

La totalité des résultats exposés précédemment pour les groupes F - G - H et I traités au 9e jour de gestation figurent dans le Tabelau XXIV sous forme de pourcentages, et, suivant notre code d'interprétation dans les diagrammes reflétant les intensités des anomalies (fig. 51 et 52).

TABLEAU XXIV

Répartition en % des anomalies neurophysiologiques observées sur les groupes F., G., H. et I., rapportées au nombre total des animaux examinés et au nombre d'animaux morphologiquement normaux.

	Nombre animaux examinés	Nombre d'animaux présentant des anomalies										Nombre anormaux
		E.Co.G.							PES		PEV	
		A	M	≠ AP	S	PD	R Ev	H	CL	HL		
Nombre total	56	14	29	11	2	8	—	8	12	2	3	34
% global		25 %	52 %	20 %	4 %	14 %	—	14 %	21 %	4 %	5 %	61 %
Nb. An. normaux	55	14	28	11	2	8	—	8	12	2	3	33
% partiel		25 %	51 %	20 %	4 %	14 %	—	14 %	22 %	4 %	5 %	60 %

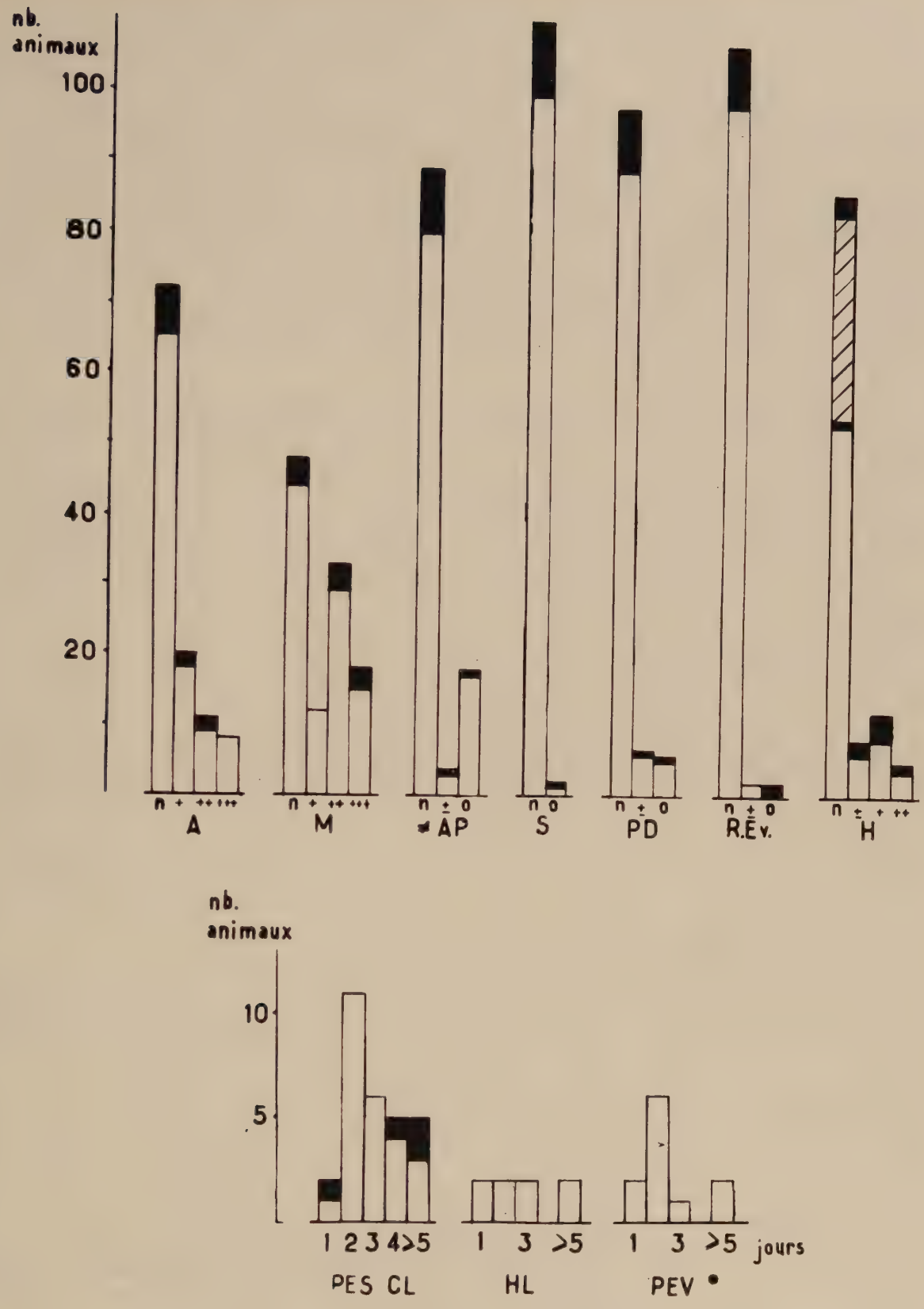


FIG. 49 & 50. — Bilan des anomalies des activités spontanées, et des retards de maturation des réponses évoquées chez les Lapereaux des groupes A, B, C, D et E.
Les surfaces blanches représentent les animaux normaux sur le plan morphologique, les surfaces noires correspondent aux Lapereaux malformés.
Les hachures présentes dans la colonne des signes d'éveil hippocampique (H), correspondent aux Lapereaux âgés de moins de 9 jours.

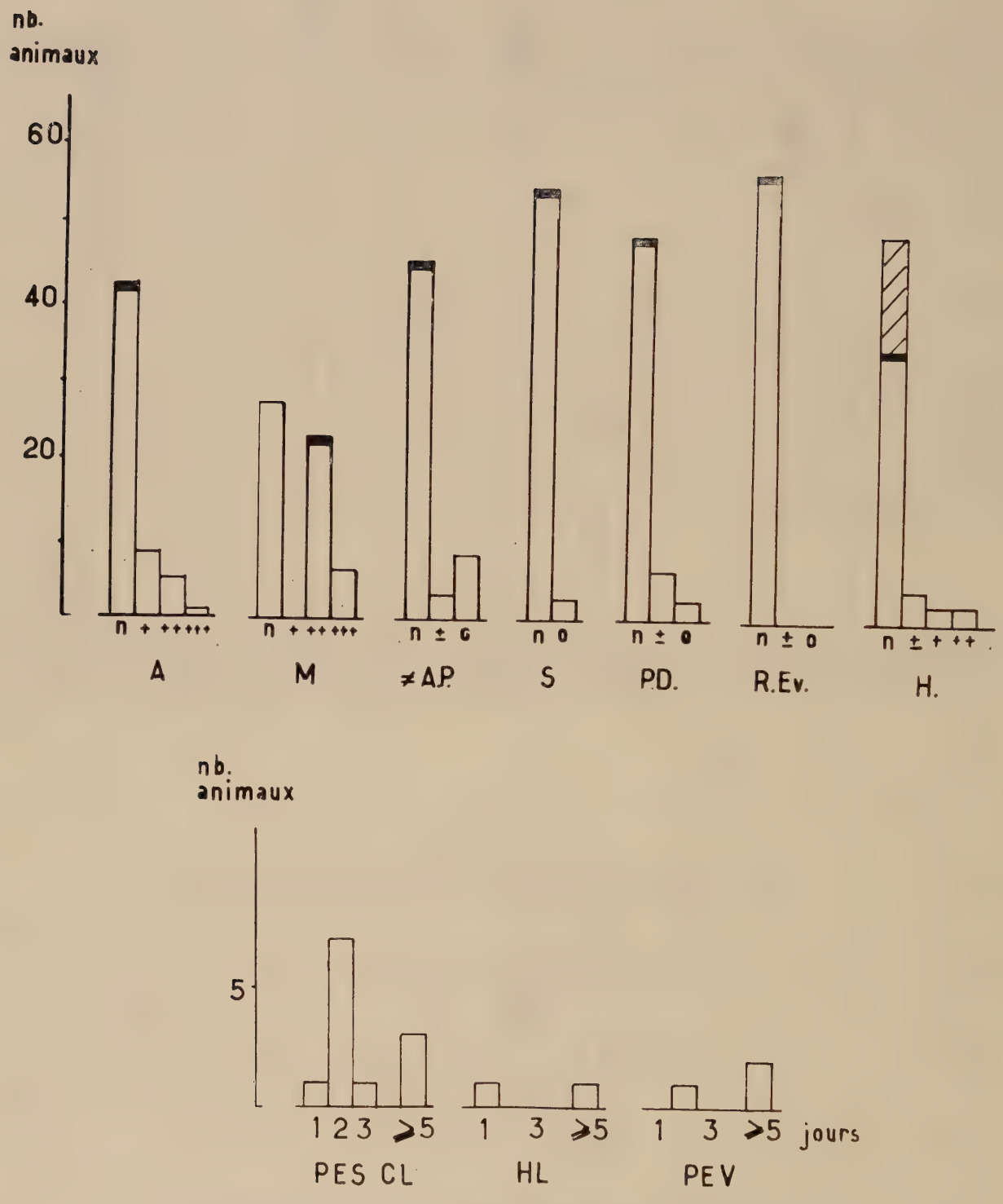


FIG. 51 & 52. — Bilan des anomalies des activités spontanées et des retards de maturation des réponses évoquées chez les Lapereaux des groupes F, G, H et I.

DISCUSSION

Avant de juger de l'ensemble de ces résultats, il convient d'estimer la valeur de l'apport de l'électroencéphalographie dans ce genre d'études.

D'une façon générale, si l'on tient pour acquis le respect des impératifs techniques, la précision de cet examen est de prime abord satisfaisante, dans la mesure où il consiste en l'enregistrement de phénomènes, c'est-à-dire, en l'apport d'un document graphique. Cependant, son analyse en vue de l'interprétation reste très fortement entachée de subjectivité : les nombreuses tentatives de quantification, quel que soit le mode d'approche employé, n'ont pas encore donné, à notre connaissance, entière satisfaction, et l'on comprend d'autant mieux la difficulté d'une telle réalisation si l'on considère le nombre de paramètres dont il faut tenir compte pour obtenir le reflet le plus exact possible de la signification des oscillations de potentiels bioélectriques.

Ceci est d'autant plus vrai lorsqu'on applique cette méthode d'investigation à l'étude de l'ontogénèse où s'ajoute un nouveau paramètre : l'âge, qui conditionne au cours du temps la physionomie des phénomènes EEG.

Nous savons qu'en clinique pédiatrique, l'EEG constitue un élément diagnostique de caractère systématique ; son but — le dépistage de retards évolutifs et l'identification de phénomènes pathologiques — reste strictement limité au degré de connaissance de l'évolution neuro-physiclogique normale. L'acquisition de cette connaissance nécessite une étude statistique préalable, étendue à un nombre de sujets d'autant plus important que l'acquisition des caractéristiques adultes s'échelonne sur une plus longue période.

Quant à la valeur même du diagnostic, la découverte de grapho-éléments pathologiques, d'ordre paroxystique par exemple, représente une certitude dans la discrimination d'un état convulsif latent qui se confirme tôt ou tard par d'autres données symptomatiques ; il n'en est pas toujours de même en ce qui concerne les retards de maturation de l'EEG : ceux-ci autorisent à suspecter une anomalie dans le développement des structures nerveuses centrales ou corticales, mais nous savons, d'une part, que ces retards ne constituent pas toujours une anomalie définitive, en ce sens qu'ils peuvent régresser et s'annuler ; d'autre part, que la persistance des caractères EEG immatures sur le tracé d'un individu adulte n'entre pas systématiquement dans le cadre d'un tableau clinique caractérisant un véritable retard psychomoteur ou intellectuel.

Ainsi, la corrélation entre la pathologie discrète de l'électroencéphalographie et la pathologie générale n'est pas totale, dans la mesure où nous ne sommes pas à même d'en discerner tous les retentissements.

Compte tenu de ces remarques, l'on comprend qu'il était souhaitable de déterminer par le plus grand nombre possible de mesures l'étendue des effets de l'actinomycine sur l'activité bio-électrique cérébrale. C'est la raison pour laquelle nous avons cru devoir compléter les données fournies par l'enregistrement des activités spontanées en étudiant parallèlement les activités évoquées par des stimulations somatiques et visuelles.

Nous avons conscience du caractère partiel des renseignements que nous avons pu en dégager à la lumière des possibilités qui nous auraient été offertes par l'utilisation des perfectionnements techniques survenus dans ce domaine depuis que nous avons entrepris ce travail, et dûs à l'introduction de plus en plus large des méthodes de traitement automatique de l'information.

D'autre part, bon nombre de travaux dont certains sont encore en cours dans le Laboratoire qui nous a accueilli viennent compléter de jour en jour nos connaissances sur la neuro-ontogénèse du Lapin : en particulier les travaux qui concernent l'enregistrement des activités corticales et centrales spontanées et évoquées par la stimulation d'autres structures, thalamiques, hippocampiques, cérébelleuses, etc...

Nous ne sommes pas sans ignorer l'importance de ces études ni l'intérêt qu'aurait présenté, sur ce plan, la comparaison des animaux témoins et « actinomycinés » ; cependant, nous avons estimé qu'il était également important, compte tenu du mode d'action de l'actinomycine, d'évaluer l'incidence biochimique et pharmacologique du traitement par cet agent, notre but étant d'acquérir une vue aussi large que possible de son action tératogène.

Telle que nous l'avons réalisée sur le plan technique, cette étude neurophysiologique est néanmoins valorisée par l'usage abondant d'implantations d'électrodes à demeure. Il était en effet essentiel de déterminer la pérennité des troubles que nous étions amené à mettre en évidence au cours de nos investigations.

Notre technique « chronique » devait permettre, en premir lieu grâce à la multiplicité des enregistrements graphiques, d'établir sur un plus grand nombre de documents la validité statistique des différences, entre témoins et « actinomycinés », que nous supputions.

La simplicité relative de l'intervention chirurgicale et le recul qu'elle permettait de prendre grâce au délai qui séparait l'implantation des électrodes et l'observation proprement dite, ainsi que le maintien de l'animal dans des conditions les plus proches possibles des conditions physiologiques, nous permettaient, dans une large mesure, de préserver des incidences néfastes probables de l'implantation « aiguë », des sujets que nous estimions « a priori » plus susceptibles que la normale.

Enfin, cette méthode présentait l'avantage majeur de permettre l'observation chez un même animal de l'évolution des activités corticales sur une période généralement étendue des premiers au 15^{e} jour ; nous avons pu dans certains cas la prolonger, suivant la solidité du montage, au-delà de deux semaines.

Cette période correspond précisément au temps de la maturation des activités corticales du Lapin ; elle nous permettait. d'autre part, de savoir à quel degré les retards éventuellement présentés par nos animaux pouvaient être compensés au cours du temps.

Cependant, nous n'avons pas manqué de recourir à la technique d'implantation « aiguë » en de multiples occasions, celle-ci offrant, entre autres intérêts, la possibilité de recueillir des réponses évoquées somesthésiques dans les meilleures conditions. De plus, en raison de la fragilité des os du crâne particulièrement accusée chez certains Lapereaux, comme les hydrocéphales que nous avons eu l'occasion d'examiner, cette méthode « aiguë » était la seule praticable pour éviter la perforation de la dure-mère par les électrodes.

Pour en venir maintenant aux commentaires des résultats que nous avons obtenus, nous remarquerons tout d'abord que les pourcentages d'anomalies neurophysiologiques que nous avons relevés dans les différents lots d'expérimentation (Tableaux XVI - XIX et XXIV) et le profil de la répartition de ces anomalies quant à leur intensité (fig. 49 à 52) montrent une similitude très constante en dépit des variations de la dose d'actinomycine administrée.

Si l'on considère que la plus forte quantité d'actinomycine administrée en une dose au 9^{e} jour (80 μg/Kg), est inférieure à la plus faible quantité administrée en 5 doses du 7^{e} au 11^{e} jour de la gestation (20 μg/Kg$\times$5), on peut voir que les disproportions de ces quantités n'ont pas entraîné de différences significatives dans la fréquence des anomalies parmi les animaux issus de mères traitées au 9^{e} jour de leur gestation d'une part, du 7^{e} au 11^{e} jour de l'autre.

Ceci vient à l'appui des remarques que nous avons faites en introduction à ce travail : l'intensité de l'action des tératogènes n'est pas proportionnelle à la dose utilisée ; tout au plus existe-t-il un seuil d'action en deça duquel on observe, suivant l'agent utilisé, soit l'avortement ou la résorption fœtale, soit l'innocuité.

Par ailleurs, il peut exister deux seuils, dans ce cas, l'action tératogène ne se manifeste que pour des doses comprises entre ces deux limites.

Toutefois, nous avons vu que l'examen morphologique nous donnait des résultats sensiblement différents, puisque nous avons rencontré un nombre plus important de malformations parmi les animaux appartenant aux groupes traités aux doses plus fortes. Nous pouvons dire à ce propos qu'il n'existe pas en fait de corrélation entre les malformations morphologiques et les anomalies neurophysiologiques, à l'exception, bien entendu, des malformations qui touchent précisément aux structures nerveuses centrales. La distinction que nous avons fait ressortir sur les diagrammes (fig. 49 à 52) en sont le témoignage, de même que les pourcentages comparés entre les anomalies rapportées au nombre total d'animaux, d'une part, au nombre d'animaux indemnes sur le plan morphologique de l'autre.

Nous pouvons en conclure que le choix du 9^{e} jour de la gestation correspondait bien au but que nous nous étions proposé : frapper le plus sélectivement possible le développement du tissu nerveux, en utilisant des doses telles que les anomalies macroscopiques soient le moins évidentes. En effet, en passant du premier mode d'administration (5 doses) au second

(dose unique au 9e jour) les malformations morphologiques ont diminué de 6 à 1,6 %, ce qui correspond à une diminution de 73 %, alors que les anomalies neurophysiologiques n'ont régressé que de 72 à 61 %, soit une diminution de 15 %.

Parmi ces anomalies neurophysiologiques, nous devons distinguer : d'une part, les retards de maturation E.Co.G., de l'autre, les manifestations paroxystiques.

Sur les 167 Lapereaux qui ont subi cette expérimentation, 114 (dont 9 « malformés ») ont présenté des troubles divers répartis comme il suit : 70 retards de maturation et 44 tracés sub-convulsifs ou convulsifs, dont 5 cas étaient associés à un retard de maturation, ce qui porte à 45 % les proportions globales d'animaux « retardés ». Parmi ceux-là, seul un petit nombre (11 Lapereaux) ont compensé ce retard, généralement entre le 12e et le 14e jour.

Quant aux activités paroxystiques, elles prennent une place non moins considérable : 26 % des Lapereaux en ont présenté à divers stades et sous des formes morphologiques variées.

La répartition des anomalies sur les différents caractères que nous avons distingués a révélé une très forte supériorité de la fréquence des anomalies E.Co.G., particulièrement celles qui touchaient à l'amplitude et à la morphologie des tracés, par rapport à la fréquence des anomalies des différents paramètres des réponses évoquées. Cette divergence tient essentiellement à la très forte dispersion des valeurs normales des paramètres. Cette dispersion qui est d'ailleurs plus grande encore pour les latences des potentiels évoqués somesthésiques homolatéraux, est à l'origine des faibles proportions d'animaux pour qui ces latences étaient affectées ; compte tenu de l'importance des écarts types, la probabilité de rencontrer des valeurs qui soient exclues des limites normales était en effet beaucoup plus faible. Il est certain, à ce propos, que le perfectionnement des méthodes d'interprétation nous aurait apporté plus de précision dans la confrontation des deux groupes de résultats.

Enfin, nous devons signaler que nous avons rencontré de nombreux cas où les anomalies E.Co.G. et les anomalies des paramètres des potentiels évoqués étaient dissociées. La distinction entre les groupes de neurones responsables de l'un et l'autre processus et la différence de la vitesse de maturation de leurs connexions synaptiques nous semble être seule en cause.

En conclusion de cette analyse, nous pouvons dire dès à présent que le but de nos recherches a déjà dans une large mesure abouti, puisque nous sommes parvenu à mettre en évidence l'existence de désordres neurologiques dans des proportions incontestablement élevées chez des animaux dont l'examen superficiel aurait permis d'affirmer dans 95 % des cas qu'ils étaient normaux.

Il nous reste à voir si nous pouvons retrouver des constatations de cet ordre en explorant, au moins partiellement, les activités biochimiques et la sensibilité pharmacologique de tels animaux.

RESULTATS BIOCHIMIQUES

Sachant que l'actinomycine, par son action sur le métabolisme des acides nucléiques, possède la propriété d'inhiber la synthèse des protéines en général, et des enzymes en particulier, nous nous proposions de compléter notre étude neurophysiologique par une exploration biochimique, susceptible de mettre en évidence un trouble métabolique parmi nos animaux issus de mères traitées pendant leur gestation. Or, au début de ce travail, nous avons eu l'occasion de constater l'existence d'une tache pigmentée sur le cortex de l'un de nos Lapereaux (MAc 8 - fig. 14). Cette anomalie nous a suggéré la possibilité d'une accumulation de pigments mélanogènes. Etant donné l'appartenance des mélanines à la chaîne métabolique des indoles, nous avons décidé d'orienter nos investigations dans cette voie.

Le tryptophane, acide aminé essentiel à noyau indolique, constitue le métabolite initial de cette chaîne. Afin de faciliter la lecture de nos résultats, nous avons rappelé schématiquement les différentes étapes du métabolisme du tryptophane (Tableau XXV).

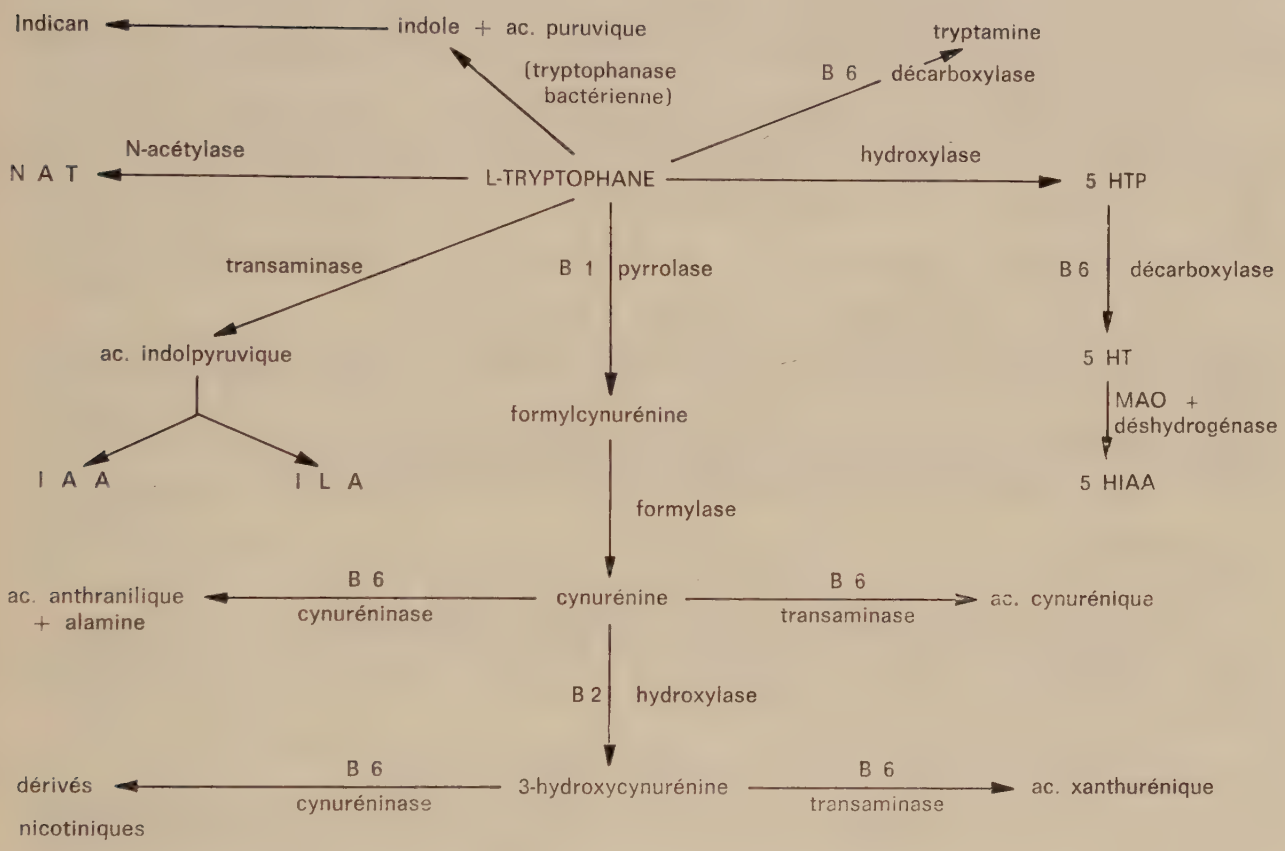
Nous avons mesuré par une méthode simple les quantités de tryptophane et de ses produits de dégradation présentes dans les urines de nos animaux, dans le but de mettre en évidence l'accumulation éventuelle de l'un d'eux, ce qui signifierait une carence enzymatique au niveau correspondant : par exemple, l'apparition de fortes proportions de 5 hydroxy-tryptophane signifierait un défaut de la décarboxylase correspondant à sa transformation en sérotonine. Dans la mesure où la chaîne de synthèse de la sérotonine est concernée par le métabolisme du tryptophane ce rapprochement nous a paru justifier pleinement cette entreprise ; un trouble dans la synthèse de cet effecteur du SNC pouvant être, au moins en partie, à l'origine des anomalies fonctionnelles d'ordre E.Co.G. que nous avons pu relever parmi nos animaux. L'on sait en effet le rôle important attribué à la sérotonine dans les mécanismes nerveux et la place de choix que tiennent les agents pharmacologiques actifs sur son métabolisme, comme les inhibiteurs de la mono-amine-oxydase, dans la thérapeutique neurologique.

D'autre part, nous avons déterminé l'activité de transamination du tissu nerveux, et parallèlement celle du plasma. Ces dosages étaient destinés à nous permettre d'évaluer directement l'effet inhibiteur éventuel de l'actinomycine sur la synthèse des enzymes responsables de la transamination. Nous avons choisi particulièrement ceux-ci non seulement pour leur intervention dans le métabolisme de l'acide glutamique dont on sait l'importance fonctionnelle au sein du tissu nerveux, mais également en raison de la nature de leur co-enzyme commun : la vitamine B 6 (Meister [1955]). Et cette dernière constitue le lien entre les deux examens pratiqués. Comme nous l'avons signalé sur le schéma de dégradation du tryptophane (Tableau XXV), la plupart des réactions clefs sont en effet pyridoxino-dépendantes, et l'on conçoit, au regard des étapes successives, que la déficience de l'un des enzymes à coenzymes B 6 puisse entraîner l'accumulation du métabolite intermédiaire concerné, comme le 5-hydroxy-tryptophane, l'acide cynurénique, l'acide xanthurénique. Nous citerons à ce sujet l'importante revue publiée par Holtz et Palm (1964), dans laquelle les auteurs rappellent, in-extenso, l'historique de l'acquisition de nos connaissances sur les actions biologiques et pharmacologiques de la vitamine B6.

Aucun travail antérieur, à notre connaissance, n'ayant été consacré à ces deux points particuliers de la biochimie au cours de l'ontogénèse du Lapin, dans l'un et l'autre cas, nous nous sommes trouvé dans l'obligation de déterminer au préalable les valeurs physiologiques correspondant à ces deux examens chez les Lapereaux normaux au long de leur développement. Aussi exposerons-nous successivement les techniques que nous avons employées, les résultats que nous avons obtenus chez les animaux témoins et chez les animaux « actinomycinés ».

TABLEAU XXV

Représentation schématique du métabolisme du tryptophane.



N A T : N-acétyltryptophane
I A A : ac. 3-indol-acétique
I L A : ac. 3-indol-lactique
5 HTP : 5-hydroxytryptophane
5 HT : 5-hydroxytryptamine
5 HIAA : ac. 5-hydroxyindolacétique

DETERMINATION DES DERIVES INDOLIQUES URINAIRES

TECHNIQUE

Nos expériences ont porté sur 110 prélèvements « témoins » et 197 « actinomycinés ».

— **Récolte des échantillons :** comme nous l'avions exposé au chapitre des techniques d'élevage, nous avons pratiqué nos prélèvements d'urine au moment où nous enlevions l'un ou l'autre des Lapereaux de leur nid, en vue de l'examen neurophysiologique, afin de limiter à une seule intervention le trouble que nous apportions au calme de la portée. Etant donné la fréquence des têtées (8 à 10/jour), nécessaires au bon développement des jeunes Lapereaux, aucun d'eux n'a été soumis à une contention de 24 heures dans une cage à métabolisme. Toutes nos déterminations ont donc été effectuées sur un échantillon unique des urines de la journée, prélevé à une heure fixe, en début d'après-midi. Les urines étaient obtenues par pression de la vessie et recueilies dans des flacons de verre à large ouverture fermant hermétiquement.

La conservation éventuelle des prélèvements était assurée à + 4° C.

Pour déterminer l'excrétion des divers constituants indoliques urinaires nous avons employé une méthode désormais classique en biochimie clinique : la chromatographie.

— **Chromatographie sur papier** : pour chaque échantillon, nous avons pratiqué 2 chromatographies ascendantes bi-dimentionnelles sur papier Whatman n° 1 en feuilles de 25 x 25 cm, suivant la technique de Jepson (1955). Les dépôts étaient de 100 µl d'urine ;

— **Les solvants :** pour chaque migration nous avons employé successivement les mélanges :

a) iso-propanol : ammoniaque R.P. : eau distillée, dans les proportions 200 : 30 : 50 volume à volume (v/v).

b) butanol : acide acétique : eau distillée, (120 : 30 : 50 v/v).

Après des migrations de 15-16 h. dans le solvant a), de 6-7 h. dans le solvant b), effectuées successivement en chambre thermostatée, les feuilles étaient séchées à l'air libre avant révélation.

— **Révélation :** nous avons examiné les chromatogrammes en lumière ultra-violette, puis pour un premier chromatogramme, après pulvérisation de réactif d'Ehrlich :

— para-diméthylaminobenzaldéhyde (RP) en solution à 10 % dans de l'acide chlorhydrique RP ..... 1 volume

— acétone ..... 4 volumes

suivie d'un séjour de 5 minutes à l'étuve à 50° C.

Pour le second chromatogramme, la pulvérisation de réactif de Pauly :

— acide sulfanilique en solution à 10 % dans l'acide chlorhydrique R.P. .... 1 volume

— nitrite de sodium en solution aqueuse à 5 % ..... 1 volume

— carbonate de calcium en sol aqueuse à 10 % ..... 2 volumes

était suivie d'un séjour de 5 minutes à l'étuve à 100° C.

— **Interprétation :** sur les chromatogrammes révélés au réactif d'Ehrlich, nous avons évalué l'intensité des colorations correspondant aux métabolites suivants :

— indican ou sulfate d'indoxyle, forme d'élimination de la fraction du tryptophane transformée en indole par la flore intestinale, et dont la présence témoigne d'un défaut d'absorption du tryptophane ;

— 5-hydroxytryptophane (5HTP), normalement absent par suite de sa décarboxylation en:

— 5 hydroxy-tryptamine (sérotonine-5HT) elle-même normalement métabolisée pour sa plus grande part sous la forme :

— acide 5 hydroxy-indolylacétique (5 HIAA), sous l'action conjuguée d'une monoamine oxydase et d'une deshydrogenase ;

— acide indolylacétique (IAA), résultant de la transamination puis de l'oxydation du tryptophane par l'intermédiaire de l'acide indolylpyruvique ;

— acide cynurénique et acide anthranilique résultant respectivement de la transamination et de l'oxydation de la cynurénine ;

— N-acétyl-tryptophane ;

— et enfin le tryptophane lui-même.

Les chromatogrammes traités par le réactif de Pauly nous ont permis d'évaluer essentiellement l'acide xanthurénique, produit de dégradation du métabolisme intermédiaire du tryptophane survenant particulièrement en fortes quantités dans l'urine humaine lors des carences en pyridoxalphosphate (vitamine B6).

VARIATIONS OBSERVEES AU COURS DE L'AGE CHEZ LES ANIMAUX TEMOINS

Cette première partie expérimentale porte sur 110 résultats obtenus.

Si l'on considère successivement les quantités excrétées de chacun des métabolites qui ont retenu notre attention, nous constatons les variations suivantes (Tableau XXVI, p. 119).

— l'indican n'apparaît que de façon inconstante à partir du 6-7e jour et se retrouve en faibles quantités sur les chromatogrammes d'animaux adultes ;

— le tryptophane est excrété précocement en proportions notables puis tend à disparaître progressivement à partir du 8-9e jour ;

— le NAT est éliminé en quantités croissantes jusqu'au 10-11e jour puis tend à diminuer légèrement jusqu'à l'âge adulte où il se maintient à un niveau relativement élevé ;

— le 5 HTP apparaît à l'état de traces dès le 3e jour, s'élimine en quantités accrues entre le 5e et le 11e jour, puis disparaît totalement vers le 15e jour (fig. 54) ;

— l'excrétion urinaire du 5 HIAA suit la même évolution, toutefois, les quantités présentes sont relativement faibles au moment de l'excrétion maxima et la chute du taux d'élimination est plus tardive puisqu'on en retrouve à l'état de traces chez quelques animaux de plus de 20 jours ;

— des traces d'IAA apparaissent fugacement entre le 8e et le 11e jour ;

— l'acide cynurénique s'élimine en proportions notables entre le 8e et le 14e jour puis disparaît des chromatogrammes.

— l'acide xanthurénique, enfin, est quelquefois présent en faibles quantités, sans rapport apparent avec l'âge.

CONCLUSION

Les différences quantitatives que nous avons observées dans l'excrétion des métabolites du tryptophane au cours du développement signifient dans leur ensemble que les divers enzymes responsables de la dégradation de l'acide aminé et de son absorption entrent progressivement en jeu suivant une courbe d'activité croissante avec l'âge. L'ensemble des enzymes qui doivent constituer la chaîne métabolique parvient vers le 14e jour à un taux d'activité suffisamment élevé pour que, après cette date, les chromatogrammes aient un profil très voisin de celui du Lapin adulte.

Cependant, l'étude séparée de chaque métabolite met en évidence des différences dans les modalités de maturation des processus correspondants.

En premier lieu, l'abondance relative du tryptophane intact durant les 6-7 premiers jours du post-partum, révèle un défaut d'absorption intestinale vraisemblablement causé par une déficience dans les mécanismes de transport. Cette déficience, sans doute d'origine enzymatique, s'estompe progressivement et le degré d'absorption devient sensiblement égal à celui de l'adulte vers le 11e jour.

Parallèlement, l'activité enzymatique responsable de l'acétylation en N-acétyl-tryptophane semble très rapidement s'installer, dès le 3e jour, au point qu'elle devient prédominante sur les autres voies d'utilisation. Mais au fur et à mesure que se développent les autres processus, ce métabolite disparaît partiellement.

D'autre part, les variations observées dans l'élimination des métabolites de la chaîne de synthèse et de dégradation de la sérotonine suggèrent que les enzymes responsables des différents stades atteignent leur niveau d'activité optima avec un certain décalage les uns par rapport aux autres ; en effet, l'hydroxylation semble tout d'abord entrer en jeu, sans que la décarboxylase du 5 HTP soit au niveau d'activité correspondant à la production, comme le montre le retard du maximum d'excrétion du 5 HIAA par rapport à l'élimination de son précurseur.

Enfin, l'apparition tardive de l'acide cynurénique laisse supposer que dans un premier temps (jusqu'au 6-7e jour), la transformation du cycle indolique en cycle quinoléique (dégradation en cynurénine) s'effectuerait essentiellement au profit de la formation d'hydroxycynurénine, — l'acide xanthurénique étant détecté dès le 2e jour — ; dans les jours suivants l'accumulation d'acide cynurénique tendrait à prouver, au contraire, que la transamination de la cynurénine deviendrait prépondérante par rapport aux autres voies de sa dégradation.

En résumé, cette étude métabolique montre l'existence d'une maturation progressive des processus d'absorption et de dégradation du tryptophane. L'allure même des variations ob-

servées dans les quantités de métabolites éliminés par voie urinaire indique un certain nombre de clochers apparaissant à des dates voisines et dont la disparition progressive témoigne de la venue à maturité d'une activité enzymatique. Par conséquent, la comparaison des taux d'élimination des dérivés indoliques chez les Lapereaux témoins et chez les Lapereaux « actinomycinés » devrait, à priori, nous permettre de déceler des retards ou des anomalies dans la maturation du processus d'utilisation du tryptophane.

Avant d'aborder l'exposé de cette expérimentation chez les animaux traités, il nous semble important de préciser ici quelques faits : il se trouve qu'un certain nombre de travaux ont prouvé, dans les grandes lignes, la conformité des mécanismes biologiques qui régissent le métabolisme du tryptophane chez l'Homme et chez les rongeurs, spécialement chez le Lapin : Roy et Price (1959), Kahaira et Price (1962), Weber et Wiss (1963), Korbitz, Price et Brown (1963), Gall et Coll. (1964), Woodford et Barthwall (1964), entre autres.

Bien que nous ne disposions d'aucune donnée concernant l'étude de l'ontogénèse de ce métabolisme en expérimentation animale, nous savons que chez l'enfant des recherches comparables ont permis de déceler des déficiences enzymatiques transitoires, similaires à celles que nous décrivons chez le jeune Lapin.

Nous avons vu, d'autre part, tout au long de l'exposé des données biochimiques expérimentales (p. 18 à 28) qu'il s'agissait là d'un phénomène général commun à la plupart des activités enzymatiques : partant d'un faible niveau à la naissance, elles s'accroissent rapidement jusqu'à un palier dont l'apparition coïncide sensiblement avec l'achèvement de la maturation fonctionnelle.

La présence des métabolites qui différencient les chromatogrammes des dérivés indoliques chez l'adulte et chez le jeune correspondraient par conséquent à un état physiologique, bien que le profil des chromatogrammes que nous avons été amené à rencontrer le plus souvent, dans la période qui s'étend du 5e au 11e jour en particulier, ne soit pas sans rappeler les anomalies provoquées par les carences en vitamine B6.

Etant donné la plus grande similitude encore des résultats que nous avons obtenus chez certains animaux « actinomycinés » avec le tableau d'hypovitaminose B6, nous reviendrons plus en détails sur ce point à l'occasion des commentaires qui termineront ce chapitre.

VARIATIONS OBSERVEES CHEZ LES ANIMAUX « ACTINOMYCINES »

Ce travail porte sur 117 résultats exprimés.

L'étude séparée des Lapereaux appartenant aux groupes A, B, C,... correspondant aux différentes doses d'actinomycine administrées à leurs mères ne nous a pas permis de mettre en évidence des écarts significatifs entre ces lots ; nous avons donc regroupé la totalité des résultats et nous nous proposons de les comparer dans leur ensemble aux résultats obtenus chez les animaux témoins.

Comme précédemment nous avons établi pour chaque métabolite les variations quantitatives de son excrétion d'un âge à l'autre (Tableau XXVII).

La comparaison des pourcentages d'animaux d'un même âge éliminant des quantités voisines d'un métabolite déterminé montre que, dans le cas général, les différences entre témoins et « actinomycinés » sont plus ou moins significatives suivant le stade du développement de l'animal.

Nous pouvons noter la présence fréquente de quantités supérieures d'indican, il en est de même pour le NAT.

L'élimination du tryptophane est également plus importante chez les Lapereaux traités jusqu'au 12e jour et persiste même au-delà du 20e jour pour un petit nombre d'entre eux.

Pendant la période où les Lapereaux témoins éliminent des quantités croissantes de 5 HTP (jusqu'au 12e jour), les « actinomycinés » ne montrent pas de différence significative, si ce n'est dans la précocité de l'apparition des fortes quantités. Au contraire, à partir du 12e jour, tandis que les urines témoins ne contiennent plus que de faibles proportions de 5 HTP (la décarboxylase entrant vraisemblablement dans sa phase d'accroissement rapide d'activité), les Laperaux « actinomycinés » continuent d'éliminer des quantités sensiblement aussi importantes qu'entre le 5e et le 11e jour, et ce taux d'élimination ne régresse que partiellement au-delà du 20e jour (fig. 53).

TABLEAUX XXVI et XXVII

Variations observées dans l'excrétion urinaire des métabolites du tryptophane — chez les animaux témoins et chez les « actinomycinés »

		Témoins				« Actinomycinés »			
		1-4	5-11	12-20	> 20 j.	1-4	5-11	12-20	> 20 j.
Indican	0	83 %	55 %	50 %	38 %	52 %	30 %	34 %	12 %
	±	9	18	22	—	4	27	16	28
	+	8	21	—	25	17	24	27	16
	++	—	3	25	38	24	14	16	—
	+++	—	3	3	—	3	5	7	32
	++++	—	—	—	—	—	—	—	12
Trypto	0	46	31	39	75	17	16	41	84
	±	—	19	14	25	4	8	7	4
	+	12	31	33	—	17	38	38	8
	++	25	16	11	—	41	31	12	—
	+++	17	3	3	—	20	7	2	4
NAT	0	100	55	64	56	90	42	41	20
	+	—	23	25	25	6	38	41	16
	++	—	16	11	19	4	20	18	24
	+++	—	6	—	—	—	—	—	20
	++++	—	—	—	—	—	—	—	20
5 HTP	0	67	31	72	100	62	25	21	60
	±	33	18	14	—	14	3	9	16
	+	—	21	14	—	6	23	32	16
	++	—	21	—	—	14	38	29	8
	+++	—	9	—	—	4	11	9	—
5 HIAA	0	92	52	79	82	62	23	12	40
	±	8	18	18	11	7	10	18	24
	+	—	16	3	6	14	34	43	28
	++	—	14	—	—	17	33	25	8
	+++	—	—	—	—	—	—	2	—
I. AA	0	100	82	100	100	72	74	77	84
	±	—	18	—	—	24	3	7	8
	+	—	—	—	—	4	19	16	8
	++	—	—	—	—	—	4	—	—
ac. Cyn	0	100	62	68	75	83	51	73	72
	+	—	12	14	19	—	24	13	12
	++	—	14	12	6	10	15	12	12
	+++	—	12	6	—	7	10	2	4
ac. Xanth	0	59	40	54	50	93	48	43	24
	±	24	25	28	31	4	11	21	20
	+	17	29	18	19	3	19	20	28
	++	—	6	—	—	—	17	16	24
	+++	—	—	—	—	—	5	—	4

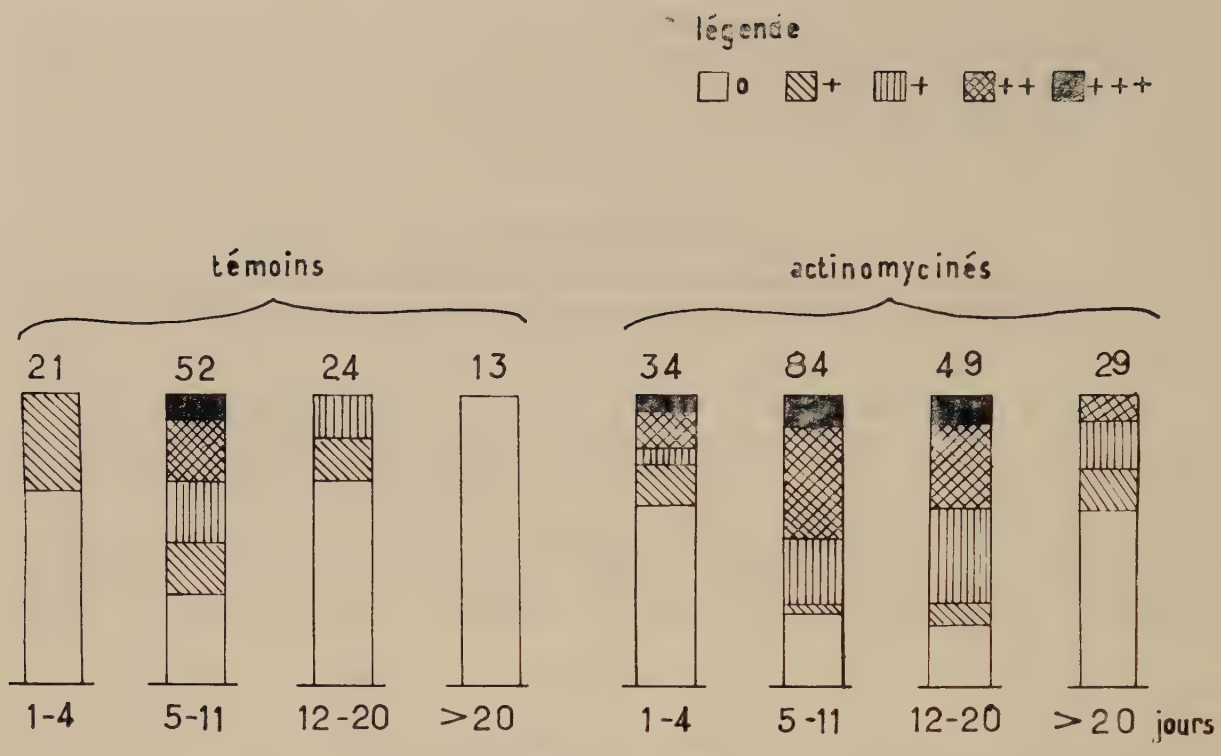


FIG. 53. — Variations dans l'élimination urinaire du 5 hydroxy-tryptophane.

Les fluctuations du 5 HIAA appartenant à la même voie catabolique suivent sensiblement les mêmes modalités que celles du 5 HTP, avec un retard de quelques jours sur le maximum d'excrétion et sur la chute de concentration urinaire.

Les proportions d'IAA qui se maintiennent au-dessus de la normale tout au long du développement montrent le caractère pathologique de 20 à 25 % des Lapereaux.

Tandis que le taux d'élimination d'acide cynurénique reste sensiblement comparable dans les deux groupes, les quantités d'acide xanthurénique excrétées après le 12e jour sont fréquemment supérieures chez les Lapereaux «actinomycinés ».

Si nous reprenons maintenant individuellement les cas particuliers de quelques portées en tenant compte du contexte morphologique et neurophysiologique étudié auparavant, nous pouvons distinguer, d'une part, les Lapereaux pour qui l'élimination des dérivés indoliques reflétait une carence enzymatique prolongée, donc, en quelque sorte, un retard de maturation, d'autre part ceux dont les chromatogrammes s'apparentaient à une maladie métabolique.

Parmi les animaux indemnes à la fois sur le plan morphologique et neurophysiologique, nous n'avons décelé aucune anomalie dans la portée 4510-2 (groupe H) ; au contraire, les Lapereaux 2689 (groupe H) ont éliminé précocement (dès le 3e jour) des quantités relativement importantes de NAT, de 5 HTP puis de 5 HIAA ; cette anomalie s'est prolongée au-delà du 12e jour pour le 5 HTP.

Dans le groupe des Lapereaux porteurs d'anomalies morphologiques, sans corrélation neurophysiologique, l'étude de la portée 4557 (groupe C), qui comptait l'animal au cerveau pigmenté, a révélé une importante élimination d'indican accompagnée d'une élévation transitoire du taux de 5 HTP excrété.

Parmi les portées dans lesquelles nous avons signalé des retards de maturation E. Co. G, nous avons pratiqué cette étude chromatographique chez 9 d'entre elles.

Signalons tout d'abord que l'examen s'est révélé parfaitement normal pour les Lapereaux issus des portées 2730-1 (groupe C), 2689-2 (groupe D), 4505-1 (groupe E), 4511-2 (groupe H).

Nous avons poursuivi l'étude des métabolites urinaires de la portée 4504 (groupe C) du

5e jour au 2e mois. Dès les premiers examens, nous avons noté une excrétion accrue de NAT et d'acide cynurénique, ultérieurement, (vers le 12-13e jour) les quantités de 5 HTP se sont maintenues à des taux supérieurs à la normale tandis que l'anomalie représentée par l'élimination d'acide cynurénique devenait transitoire. Par ailleurs, ces animaux ont éliminé tardivement des quantités notables d'indican.

Les Lapereaux des portées 2741 et 2730-2 (groupe C) ont présenté des chromatogrammes normaux jusqu'au 11-12e jour, puis une accumulation successive de 5 HTP puis de 5 HIAA, celle-ci s'est maintenue au-delà de la normale avant de disparaître progressivement vers le 25e jour.

L'anomalie relevée chez les animaux de la portée 4501-2 (groupe H) suivis du 5e au 25e jour consistait tout d'abord en une forte élimination de NAT et d'indican, progressivement estompée en ce qui concerne l'indican par l'apparition successive de 5 HTP et de 5 HIAA, associée dans quelques cas à une excrétion anormalement élevée d'acide cynurénique.

Les portées 2821 et 2826 (groupe C) marquées par l'état convulsif ou sub-convulsif de leurs Lapereaux se sont distinguées l'une et l'autre par la persistance de l'élimination à un taux élevé des métabolites hydroxylés 5 HTP et 5 HIAA associée à une forte excrétion d'IAA.

Les animaux de la portée 2677 (groupe D) présentaient à la fois deux cas d'anomalies morphologiques (MAc 29 hydrocéphale et Ch 69 malformation tibio-tarsienne) et un retard de maturation E.Co.G. Dans la période du 5e au 13e jour, leurs urines ont contenu des quantités importantes de 5 HIAA, de NAT et parfois d'acide xanthurénique. Deux Lapereaux ont été examinés au-delà de cette période (Ch 69 et Ch 72), leurs chromatogrammes sont revenus progressivement à la normale aux enrirons du 16e jour.

Nous avons également étudié sur ce point les Lapereaux de la portée 4559 où une malformation du squelette axial était associée à un tracé riche en grapho-éléments paroxystiques : dans ce cas nous avons retrouvé les métabolites 5 hydroxylés dans des proportions voisines de celles des chromatogrammes des animaux convulsifs et sub-convulsifs.

Enfin, nous nous proposons de relater séparément les résultats qui concernent la portée 2615-1 en raison des caractères exceptionnels qu'ils présentaient :

nous avons décrit chez ces Lapereaux les troubles occulaires et palpébraux dont ils étaient affectés (fig. 14 et 15, p. 58) et nous avons signalé les particularités de leur démarche ; tous les chromatogrammes effectués pour cette portée ont révélé l'existence d'une très forte excrétion d'indican, associée à des proportions variables de tryptophane et, systématiquement accompagnée d'une élimination d'IAA.

Les fortes quantités d'indican et de tryptophane éliminées semblaient signifier un trouble de l'absorption de l'acide aminé, et cette hypothèse s'est vue confirmée ultérieurement à la lecture de quelques observations cliniques relevées dans la littérature : il existe en effet une maladie métabolique connue sous le nom de maladie de Hartnup, qui se caractérise par une élimination urinaire anormale d'indican et d'IAA, attribuée à une déficience de l'enzyme responsable de l'absorption du tryptophane (C. Scriver [1961] — Hooft, de Laey et Coll. [1962] — de Laey, Hooft et Coll. [1964] — Fois et Lecchini [1964]).

L'une des conséquences de cette maladie réside dans l'établissement d'un syndrôme neurologique caractérisé par une ataxie cérébelleuse passagère et inconstante. Il nous est impossible d'affirmer dans quelle mesure les troubles musculaires qui semblaient affecter particulièrement le cou de nos animaux sont redevables d'une telle étiologie. Toutefois, nous pouvons rappeler que nous avons observé des anomalies E.Co.G chez ces Lapereaux, qu'il s'agisse soit de retards relativement prononcés de la maturation des signes bio-électriques, soit de crises convulsives avec pointes généralisées.

CONCLUSION

Comme nous l'attendions, la confrontation des résultats de cette exploration chez les Lapereaux traités et témoins fait ressortir, dans une bonne proportion, une atteinte des mécanismes de maturation des activités enzymatiques.

Il est certain que cette partie expérimentale ne peut prétendre à d'autre but que celui

d'élargir par des considérations biochimiques l'étude que nous avons entreprise essentiellement sur un plan neurophysiologique. Toutefois, malgré son imperfection, en particulier, malgré son aspect semi-quantitatif, la technique chromatographique que nous avons employée, au seul titre de dépistage, nous a permis de noter des différences significatives dans les résultats que nous relations.

Ainsi, pouvons-nous dire en bonne approximation que la majorité des troubles que nous avons relevés consistent essentiellement en un retard de la mise en jeu et de la maturation de systèmes enzymatiques dont l'évolution ontogénétique normale suit une courbe ascendante rapide jusqu'au 9-10e jour, puis s'élève progressivement jusqu'aux valeurs adultes entre le 10e et le 15e ou 20e jour, selon l'enzyme. Les enzymes de la chaîne des dérivés 5 hydroxylés, qui ont été le plus souvent concernés, sont dans ce cas.

Pour quelques animaux, ce retard de maturation s'est maintenu tout au long de la période d'expérimentation, semblant signifier une insuffisance enzymatique, voire même, une véritable carence (portée 2615-1).

Cette interprétation est vraisemblable au regard de l'action de l'actinomycine sur les mécanismes de synthèse protéique. Toutefois, l'hypothèse d'une carence en vitamine B6 pouvait être également envisagée ; l'absence ou l'insuffisance des enzymes responsables de son métabolisme pouvait en effet se trouver à l'origine de la symptomatologie que nous avons établie. Diverses données cliniques ou expérimentales pouvaient nous induire à cette conclusion.

La carence en vitamine B6 est connue pour sa relative fréquence, en clinique, dans la pathologie de la gestation (Sprince et Coll. [1951] — Wachstein et Coll. [1952] — Vilenkina [1958]) et il semble que dans certains cas cette hypovitaminose puisse se reporter sur le nourrisson (Hottinger et Berger [1964]).

Dans le cas particulier de notre étude, la fréquence relative de cette anomalie ne pouvait que se trouver accrue sous l'effet de l'inhibition probable exercée par l'actinomycine sur les enzymes de l'absorption.

Sachant que les retentissements des troubles métaboliques apportés par l'hypovitaminose B6 sur la physiologie nerveuse, connus depuis quelques années à l'occasion de la découverte de l'action anti-vitamine B6 de l'isoniazide, l'on n'a pas manqué de rechercher, en particulier chez l'enfant, la participation de la vitamine B6 dans l'étiologie de certaines épilepsies spontanées en s'attachant spécialement à l'intérêt diagnostique de l'étude des métabolites urinaires du tryptophane (A.R. Krall et Coll. (1963) — Mellman (1963) — Dahler (1963) — Hagberg, Hamfelt et Hansson (1964), etc.).

En effet, sous cet angle biochimique, l'on peut différencier deux groupes de syndromes convulsifs imputables à la pyridoxine : l'un dans lequel une carence est responsable conjointement des manifestations E.Co.G. paroxystiques et d'un trouble de la dégradation du tryptophane ; c'est ce que l'on a observé cliniquemen aux U.S.A. chez de jeunes enfants nourris d'un lait dont le traitement par la chaleur avait détruit la vitamine B6 (Coursin [1954-1955] — Maloney et Parmelée [1954]) ; cette carence reproduite expérimentalement par les hydrazides provoque les mêmes effets (Pfeiffer et Coll. [1956]).

L'autre, connu sous le nom de pyridoxino-dépendance, dans lequel l'ensemble des critères biochimiques (indoles urinaires, transaminases, amino acidurie...) sont normaux, tandis que, en l'absence de traitement continu à des doses relativement élevées de pyridoxine, des crises convulsives typiques apparaissent isolément (Hunt et Coll. [1954] — Marie et Coll. [1959-1961]). Cette pyridoxino-dépendance correspondrait à un trouble métabolique dans l'absorption et l'utilisation de la pyridoxine, sans que l'on sache avec certitude s'il s'agit d'une maladie héréditaire.

Chez les rongeurs, les carences provoquées reproduisent les mêmes syndromes neurologiques que ceux observés en clinique. Mc Ilwain (1955) a retracé l'essentiel des expérimentations qui permettent de conclure à ces analogies ; depuis cette date, un certain nombre de données est venu compléter ce tableau, en particulier en ce qui concerne les altérations du métabolisme du GABA qui semblent accompagner l'abaissement du seuil convulsif des animaux carencés (Kopeloff et Chusid (1963) — Medina (1963) — Lehman (1963) — Denys, Levy et Michel-Ber (1963) — Cier, Jouvet, Dubrocard et Michel (1965), etc.).

Dans le domaine de l'électro-encéphalographie expérimentale, nous signalerons également

les études de Valora (1963), Kopelof (1963) qui ont mis en évidence la fréquence accrue des crises convulsives provoquées par différentes méthodes chez les animaux carencés.

A notre connaissance, aucune étude expérimentale électrophysiologique de ce problème n'a été entreprise dans le domaine de l'ontogénèse.

Sur un autre plan, nous citerons cependant le travail de Sloane et Chon (1964) effectué sur de jeunes Rats mis en expérimentation au moment du sevrage (21e jour) : ces auteurs ont montré que le développement comportemental de jeunes Rats soumis à un régime carentiel en vitamine B6 était retardé.

Nous avons reconnu lors de notre expérimentation électrophysiologique 26 % de Lapereaux « actinomycinés » dont les tracés E.Co.G présentaient des grapho-éléments paroxystiques. Ces proportions importantes, confrontées aux résultats de l'expérimentation biochimique étaient en faveur de l'hypothèse de l'étiologie carentielle que nous proposons.

L'étude des activités de transamination dont le coenzyme est précisément la vitamine B6 nous a semblé susceptible de permettre une analyse plus approfondie de ces données pathologiques.

Il a été déterminé, en effet, que la carence expérimentale en pyridoxine était capable d'entraîner une diminution de l'activité des transaminases au niveau de différents tissus. (Davis [1958] — Eckstein [1963] — Eckstein et Paster [1963] — Torchinskii [1963] — Esh et Som [1964]).

De plus, comme l'a rappelé Mc Ilwain (1955), il se trouve que la transaminase glutamique-oxalacétique cérébrales est le premier enzyme à être affecté en cas de pyridoxinose provoquée.

DETERMINATION DES ACTIVITES PLASMATIQUES ET CEREBRALES DE TRANSAMINATION

HISTORIQUE

Un certain nombre de travaux ont été consacrés à la détermination des transaminases glutamique-oxalacétique (TGO) et glutamique-pyruvique (TGP) au cours du développement.

Tout d'abord dans le plasma, les seules données que nous ayons trouvées dans la littérature relèvent de la pédiatrie : Abelson et Boggs (1956) — Kove, Goldstein et Wroblewski (1957). Suivant ces auteurs, les transaminases plasmatiques du nouveau-né auraient un niveau d'activité essentiellement variable, fréquemment supérieur à celui de l'adulte ; la dispersion des valeurs tendrait à diminuer au cours de l'âge.

Les transaminases tissulaires ont par ailleurs fait l'objet de déterminations chez l'embryon ou le fœtus de quelques espèces animales : chez l'Oursin (Black [1964]) elles augmentaient au cours des premières divisions cellulaires de l'œuf, chez le Chat (Cohen [1941] — rapporté par Herbst [1944]), le Porc et le Singe (Jolley et Labby [1960]), l'Homme et le Poulet (Ponomareva et Drel [1964]) leur activité cérébrale s'accroît rapidement pendant la vie fœtale, et plus particulièrement celle des TGO, nettement prédominante sur l'activité des TGP.

Dans la période post-natale, Zaprudskaya (1963) a décrit l'évolution de ces deux enzymes dans le cerveau de jeunes Chiens ; d'après cet auteur, il n'y aurait pas de différences d'activité entre le fœtus et le nouveau-né pour les TGO, tandis que les TGP subiraient une légère diminution au moment de la naissance.

Enfin, dans une publication récente, postérieure à nos propres travaux, Vos et van der Helm (1965) ont défini pour les TGO cérébrales du Lapin une évolution suivant un accroissement régulier particulièrement rapide entre le 15^{e} et le 20^{e} jour.

Etant donné la diversité des méthodes et des modes d'expression employés par les différents expérimentateurs, il est impossible d'établir des comparaisons quantitatives entre ces résultats ; tout au plus peut-on dégager les modalités de l'évolution des activités étudiées.

Nous exposerons successivement, dans les pages suivantes, les techniques que nous avons utilisées, et les résultats que nous avons obtenus dans les deux groupes de Lapereaux, témoins et « actinomycinés ».

MATERIEL ET METHODES

Prélèvements.

Après anesthésie à l'éther, 2 à 3 ml de sang ont été collectés par ponction carotidienne dans un tube hépariné.

Les plasmas séparés par centrifugation lente ont été éventuellement stockés à + 4° C.

L'animal décapité, la boîte crânienne ouverte, la totalité du cerveau a été prélevée, pesée et éventuelllement conservée à — 20° C.

Homogénats.

Nous avons disposé d'un appareil du type Thomas équipé d'un piston en téflon, et d'une cuve de verre. L'homogénéïsation a été opérée pendant 1 minute à une vitesse de rotation de 1 000 t/mn dans un tampon phosphaté 0,1 M à pH 7,4. Puis le volume de l'homogénat a été ajusté avec le même tampon de façon à obtenir une concentration finale approximative de 1 g de tissu/ml.

La totalité de l'homogénat était alors centrifugée à 2 000 t/mn pendant 10 minutes, et le surnageant utilisé soit directement pour la détermination des T.G.P. soit dilué au 1/20° dans le tampon, pour les T.G.O.

Comme nous le verrons dans l'exposé des résultats cette dilution nous a été imposée par la très forte concentration des T.G.O. (environ 5 à 10 fois plus actives que les T.G.P.).

Déterminations enzymatiques.

Nous avons utilisé la méthode décrite par Reitman et Frankel (1957) consistant à faire incuber le liquide biologique contenant l'enzyme en présence d'alanine ou d'acide aspartique puis à doser par colométrie les acides cétoniques, pyruvique et oxalacétique (lui-même transformé en acide pyruvique par addition d'aniline), après formation de leurs di-nitro-phenylhydrazones. Mais, du fait de la présence de quantités non négligeables de pyruvates dans les homogénats, nous avons effectué simultanément deux mesures colorimétriques dont une en présence d'un inhibiteur de la réaction enzymatique (0,2 ml d'acide trichloracétique à 50 %). Cette modification, permettant d'évaluer par différence la part qui revient aux seuls enzymes, nous a été suggérée par les travaux de Salvatore et Bocchini (1961).

Un double étalonnage pour chaque transaminase a été effectué avec du pyruvate de sodium (Merck) 2 mM/l, d'une part seul, d'autre part en présence d'acide trichloracétique.

Les lectures colorimétriques ont été faites au spectrophotomètre Perkin-Elmer enregistreur, à la longueur d'onde de 546 nm.

Réactifs.

Tampon pH 7,4	Phosphate mono potassique	1,772 g
	Phosphate disodique	9,552 g
	Eau bidistillée Q.S.	1000 ml
Acide trichloracétique R.P.	50 % dans l'eau bidistillée	
Trousses T C R — S Boëhringer		
Soude 0,4 N		

Expression des résultats.

Les transaminases plasmatiques ont été exprimées en unités Wroblewski (U.W.) ; les transaminases cérébrales en µmoles de pyruvate libérées par gramme de tissu frais à 37° C, en 60 minutes pour les T.G.O. et en 30 minutes pour les T.G.P.

VARIATIONS OBSERVEES CHEZ LES ANIMAUX TEMOINS

Transaminases plasmatiques (fig. 55 et 56).

Ces déterminations ont porté sur 105 animaux répartis en 6 groupes de 15 Lapereaux âgés de 2, 5, 8, 10, 14 et 21 jours et un groupe de 15 Lapins adultes. Les valeurs moyennes des T.G.O. et des T.G.P. sont élevées à la naissance, décroissent rapidement jusqu'au 8-10^{e} jour où elles sont sensiblement voisines des valeurs adultes.

La dispersion de ces résultats est extrêmement importante dans les premiers jours de la vie post-natale (88 ± 32 U.W. au 2^{e} jour pour les T.G.O.) et diminue progressivement au cours de l'âge tout en conservant des proportions relativement grandes (16 ± 7,5 U.W. au 21^{e} jour pour les T.G.O.).

Ces deux caractères de l'évolution des transaminases sont particulièrement accusés pour les T.G.O. dont les valeurs moyennes diminuent dans un rapport de 1 à 4 entre le 2^{e} et le 14^{e} jour, tandis que les écarts types représentent respectivement 36 % et 20 % de ces valeurs moyennes.

Transaminases plasmatiques (fig. 56 et 57).

Nous avons utilisé 67 Lapereaux répartis en 7 groupes constitués de 1 ou 2 portées sacrifiées aux 2^{e}, 5^{e}, 8^{e} 10^{e}, 14^{e} et 21^{e} jour et à la fin du troisième mois. Les variations d'activité au cours de l'âge se sont révélées différentes pour les deux processus enzymatiques.

T.G.P. : nous avons constaté un accroissement rapide, régulier de cette activité entre le 2^{e} et le 10^{e} jour, avec des écarts types significativement différents pour une probabilité $p < 0{,}001$. Ultérieurement, l'activité exprimée en µmoles/g de tissu décroît légèrement puis remonte lentement jusqu'au 3^{e} mois. Toutefois, cette baisse n'est que relative dans la mesure où le mode d'expression envisagé n'est pas le reflet exact de cette évolution : l'accroissement des volumes cellulaires et la myélinisation des fibres nerveuses entraînent une rapide augmentation du poids du système nerveux central (cf fig. 11, p. 53) tandis que la densité cellulaire

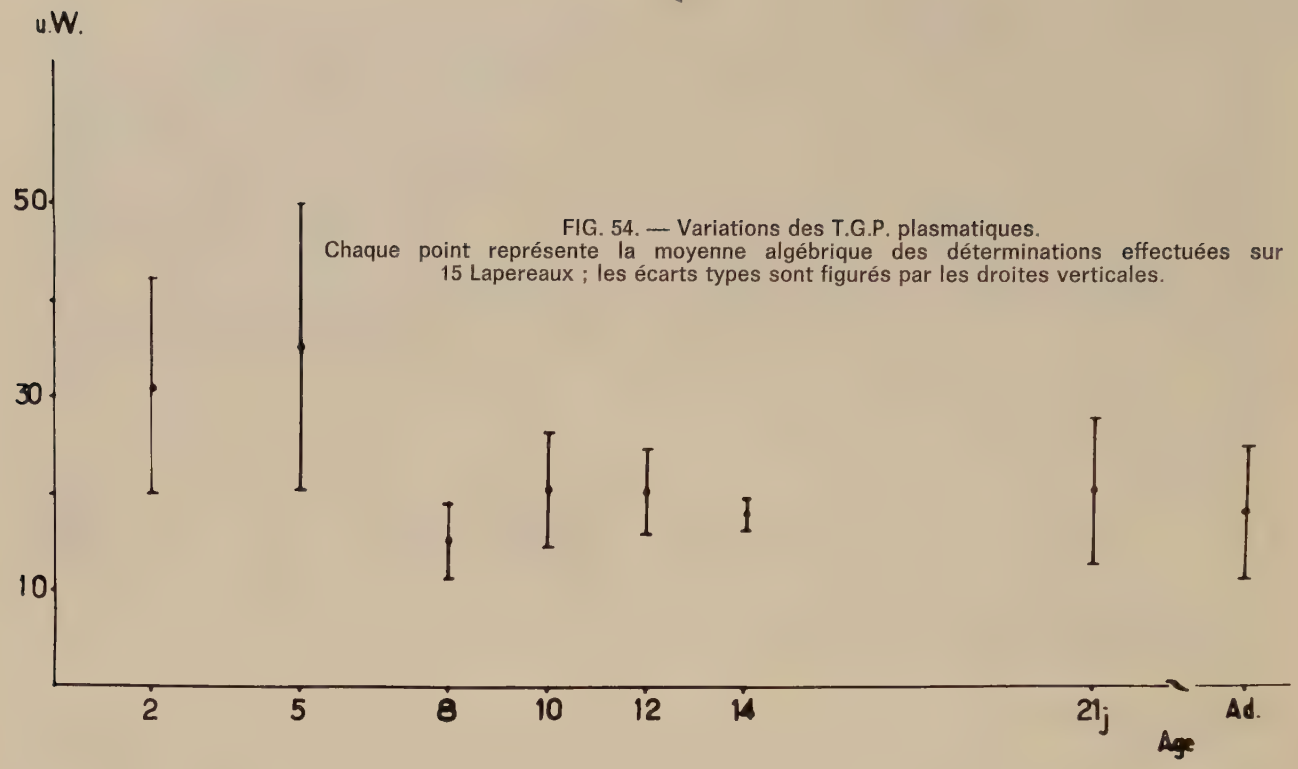


FIG. 54. — Variations des T.G.P. plasmatiques.
Chaque point représente la moyenne algébrique des déterminations effectuées sur 15 Lapereaux ; les écarts types sont figurés par les droites verticales.

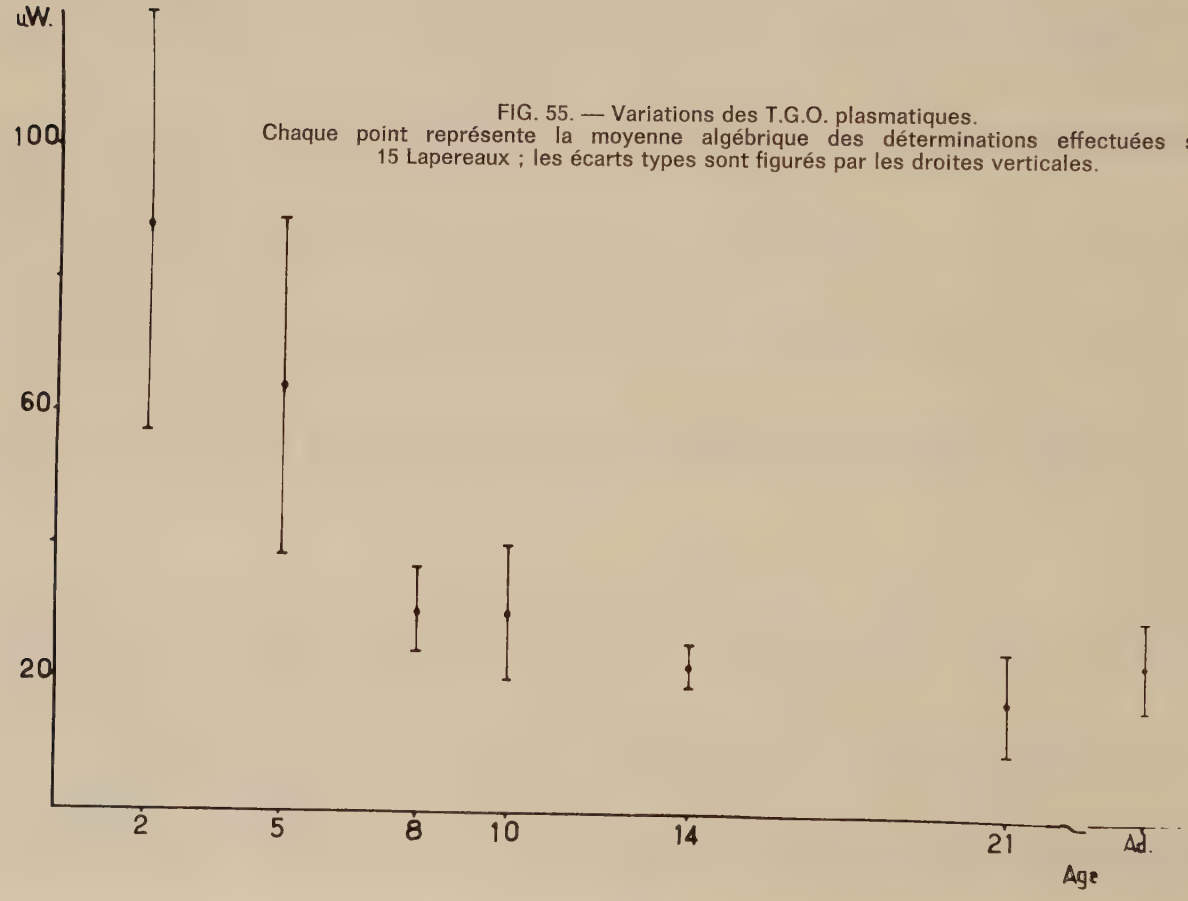
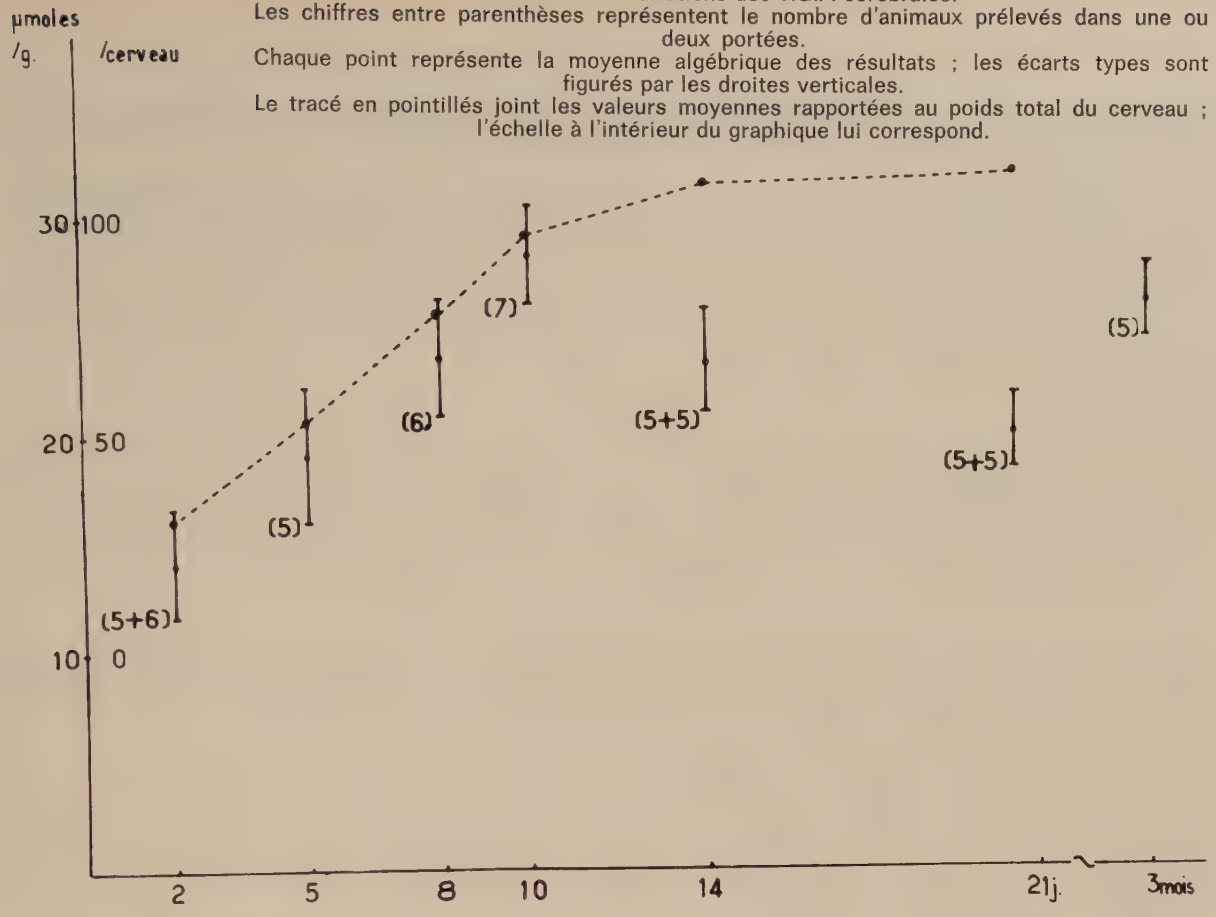


FIG. 55. — Variations des T.G.O. plasmatiques.
Chaque point représente la moyenne algébrique des déterminations effectuées sur 15 Lapereaux ; les écarts types sont figurés par les droites verticales.

FIG. 56. — Variations des T.G.P. cérébrales.
Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'animaux prélevés dans une ou deux portées.
Chaque point représente la moyenne algébrique des résultats ; les écarts types sont figurés par les droites verticales.
Le tracé en pointillés joint les valeurs moyennes rapportées au poids total du cerveau ; l'échelle à l'intérieur du graphique lui correspond.



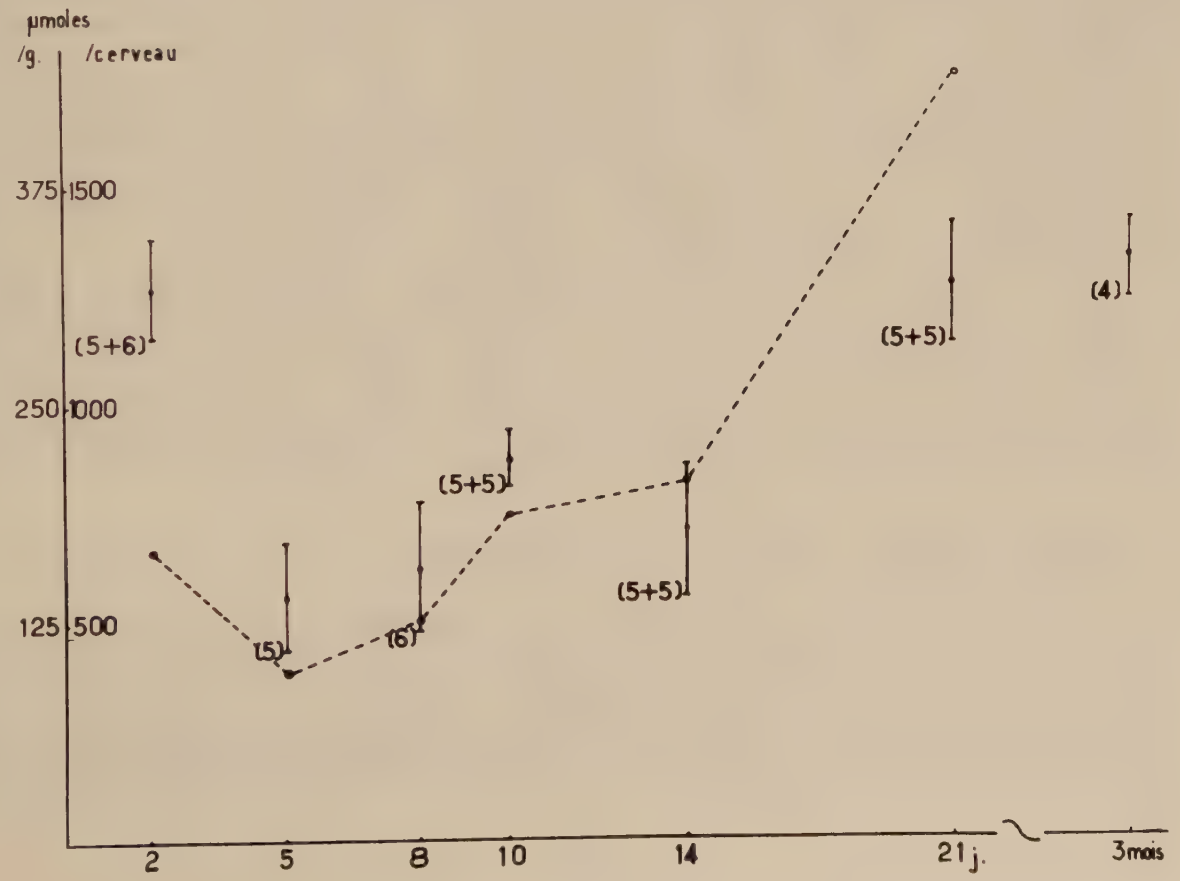


FIG. 57. — Variations des T.G.O. cérébrales.

diminue (cf. p. 15) ; nous avons donc tenu compte de ce facteur et nous avons pu constater que l'activité T.G.P. totale du cerveau continuait d'augmenter entre le 10e et le 14e jour où elle atteint un palier.

T.G.O. : contrairement aux T.G.P., les T.G.O. subissent une diminution brutale d'activité entre le 2e et le 5e jour, celle-ci augmente ensuite progressivement entre le 5 et le 14e jour, puis s'accroît rapidement jusqu'au 21e jour où elle atteint sensiblement sa valeur adulte (p compris entre 0,2 et 0,5).

Le schéma évolutif est parallèle pour les deux modes d'expression que nous avons envisagés pour les T.G.P.

CONCLUSION

La caractéristique essentielle de l'évolution des activités plasmatiques chez le jeune Lapin réside dans la grande dispersion des valeurs observées aux premiers jours.

Des tentatives de corrélation entre l'apparition des valeurs élevées chez le nouveau-né, et l'intensité de l'ictère néo-natal ont échoué (Kove, Goldstein et Wroblewski [1957]).

Il semblerait donc que cette élévation transitoire soit imputable à une lyse cellulaire qui surviendrait consécutivement au traumatisme de la naissance.

En ce qui concerne l'évolution de ces activités au niveau cérébral, l'augmentation progressive que nous avons constatée globalement s'intègre au schéma général des évolutions d'activités enzymatiques impliquées dans les phénomènes de maturation tel que l'a défini Richter (1961) (cf. fig. 4, p. 18).

Cependant, les modalités de l'augmentation des T.G.P. et l'allure particulière de la courbe évolutive des T.G.O. appellent quelques commentaires.

L'augmentation globale des transaminases s'explique dans une large mesure par le phénomène de multiplication cellulaire qui se poursuit, comme nous l'avons vu, jusqu'au 30e jour chez le Lapin ; mais ces corrélations anatomiques ne justifient pas totalement les paliers d'augmentation que nous avons observés.

Lors de l'exposé sur l'évolution du métabolisme de l'acide glutamique (p. 25 à 28), nous avons vu que les modes d'apport et d'utilisation de cet acide aminé subissaient des changements importants entre le 8e et le 15e jour. Parallèlement, nous avons vu que l'oxydation du glucose par la voie tricarboxylique prenait progressivement le pas sur la glycolyse anaérobie (p. 22 à 24).

En conséquence, bien que l'utilisation directe de l'acide glutamique à la production d'énergie décroisse après le 8e jour, les besoins du tissu nerveux en ce métabolite s'accroissent considérablement jusqu'au 15-20e jour. En effet, à cette période, l'acide glutamique prend son rôle effectif de pivot au sein du cycle de Krebs au titre de transporteur de groupements aminés, et nous savons que ce transport est précisément catalysé par les transaminases.

L'importance de ces enzymes dans les mécanismes d'oxydation du tissu nerveux a d'ailleurs été précisé par Roch-Ramel (1963) sur le ganglion cervical isolé de Rat.

En outre, pour expliquer la chute du taux d'activité des T.G.O. entre le 2e et le 5e jour, nous pensons pouvoir proposer l'hypothèse suivant laquelle à cette date l'apo-enzyme subirait des modifications structurales responsables d'une diminution de l'affinité enzyme-substrat ; nous avons vu en effet que la constitution des iso-enzymes des T.G.O. du foie de Rat présentait de telles fluctuations dans la période néo-natale précoce (Kafer et Pollak [1961]).

L'allure ascencionnelle des courbes d'activité des T.G.O. et des T.G.P. cérébrales chez les Lapereaux normaux nous a semblé susceptible d'offrir un point de comparaison intéressant entre le degré de maturité de ces derniers et des Lapereaux « actinomycinés ».

VARIATIONS OBSERVEES CHEZ LES « ACTINOMYCINES »

Transaminases plasmatiques : les sangs de 70 Lapereaux « actinomycinés » de tous âges ont servi à la détermination des activités T.G.O. et T.G.P. La dispersion considérable des résultats que nous avions obtenus chez les animaux témoins (fig. 54 et 55) ne nous a pas permis de distinguer des modifcations significatives dans cette expérimentation. Nous avons en effet retrouvé cette même dispersion des valeurs chez nos Lapereaux traités sans qu'il soit possible de noter une différence sensible avec les moyennes normales observées aux divers âges.

Au contraire, la progression régulière des activités correspondantes, au niveau du tissu nerveux, chez les animaux témoins nous a fourni une base de comparaison beaucoup plus valable.

Transaminases cérébrales : nous exposons ici les résultats afférents à 32 Lapereaux « actinomycinés » sacrifiés à la fin de leur expérimentation électrophysiologique, généralement à un âge compris entre le 7e et le 21e jour.

Sur ces 32 animaux, 15 étaient normaux ou retardés sur le plan électrophysiologique, 17 présentaient des signes d'activités paroxystiques.

Pour chaque détermination nous avons établi la comparaison entre les valeurs d'activité enzymatique des témoins et des animaux traités, exprimées par gramme de tissu d'une part, et par cerveau entier d'autre part.

Nous avons fait figurer sur le tableau XXVIII les valeurs que nous avons observées pour les différents Lapereaux soumis à ce dosage en rappelant par un sigle les observations E.Co.G correspondant à ces animaux.

L'on peut voir que d'une façon générale, l'activité des T.G.O. a été plus souvent affectée que celle des T.G.P.

TABLEAU XXVIII

Résultats des mesures de l'activité cérébrale de transamination T.G.O. et T.G.P. obtenus chez les animaux « actinomycinés »

Groupe	Portée	Animal	Age	E Co G	TGP /g	TGP total		TGO /g	TGO total	
A	2906-1	MAc 46	9e	ε	13	35,5	<	121	332	<
		Ch 166	14e	ε	16	73	<	134	610	<
	2951	MAc 70	8e	R	25	77	N	315	975	>
		71	10e	ε	24	85	N	356	1260	>
		Ch 183	14e	N	28,5	120	N	420	1770	>
		184	14e	N	25	112	N	526	2350	>>
		185	14e	N	27,5	130	N	507	2400	>>
B	1827-1	MAc 55	7e	ε	24	85	<	94	332	<
		56	8e	ε	19,5	80	N	73	229	<<
		57	11e	R	22,5	111	<	151,5	750	<<
	2944	Ch 176	12e	ε + R	32	106	N	412	1370	>>
		177	12e	R	24	80	<	350	1170	>>
		MAc 62	10e	R	27	73	<	306	825	>
		62 bis	10e	†	23	79	<	341	1170	>
	3067	Ch 178	21e	N	26,5	156	⩾	487	2870	>>
		179	21e	N	24	141	⩾	513	3050	>>
		MAc 64	8e	ε	20,5	64	⩾	295	922	>>
C	2826	MAc 45	9e	ε	15	47	<	117	370	<
D	3018	Ch 153	8e	ε	15	54	<	101	360	<
		154	9e	ε	13	46,5	<	102	365	<
		MAc 43	9e	ε	17	70	<	100	413	<
		44	11e	N	18	74	<	116	480	<
F	2859	MAc 49	9e	ε	5	7	<<	64	93	<<
	2883	MAc 50	10e	ε	25	104	N	121	500	<
		MAc 58	9e	R	34	108	N	142,5	450	⩽
		59	9e	R	27,5	83	N	149	450	⩽
		Ch 172	20e	ε	20,5	112	N	460	2500	N
G	2952	MAc 53	8e	ε + R	30,5	103	N	129	481	N
		54	9e	R	16,5	61,5	<	153	572	<
		Ch 168	9e	R	29	110	N	91	345	<
H	3053-2	Ch 181	21e	ε	28	146	>	449	2340	>
		182	21e	ε	26	160	>	440	2710	>

ε : accidents paroxystiques spontanés
R : retard dans l'apparition des signes de maturité
† : mort cérébrale
N : normal

< et << : inférieur et très inférieur à la normale
> et >> : supérieur et très supérieur à la normale
⩽ et ⩾ : peu différent de la normale

T.G.P. : cette activité s'est révélée normale dans 14 cas ; elle était fortement diminuée dans 11 cas, dont 7 représentés par des animaux à tendance convulsive ; elle était très faible chez un animal du 2e jour mort au cours d'une crise convulsive. Au contraire, nous avons observé une légère augmentation de cette activité dans 3 cas, (portée 3067), plus marquée dans 3 autres cas (MAc 55 — Ch 181 et 182).

T.G.O. : pour deux cas normaux (MAc 53 et Ch 172) nous avons dénombré deux diminutions légères, 11 diminutions importantes dont 9 parmi les animaux aux tracés convulsifs et sub-convulsifs, et 3 cas d'activité particulièrement faible. Comme dans les activités T.G.P., nous avons obtenu un certain nombre de résultats supérieurs à la normale, sur les 14 Lapereaux qui se sont trouvés dans ce cas, 9 présentaient des E.Co.G. normaux ou affectés de retards de maturation parfois associés à des troubles de croissance staturo-pondérale.

CONCLUSION

En première analyse, les modifications que nous avons observées dans l'activité des transaminases cérébrales de nos animaux semblent, au moins pour une part, relever d'une atteinte de l'actinomycine aux mécanismes de synthèse protéique.

En effet, les valeurs inférieures à la normale pouvaient être considérées comme résultant d'une inhibition de la synthèse de la protéine apoenzyme.

Cette interprétation ne nous semble pas devoir être retenue dans la mesure où, précisément, la plupart des animaux qui ont présenté ces valeurs faibles ne souffraient pas de retards de maturation.

Au contraire, les Lapereaux qui avaient présenté des troubles de maturation fonctionnelle du système nerveux central ont, en général, manifesté une activité cérébrale de transamination supérieure à la normale.

Il se peut que cette augmentation d'activité de transamination corresponde à l'exacerbation que pourrait provoquer l'accumulation de certains métabolites. Il a été en effet signalé par Leluc, Lemonnier et Coll. (1964) qu'un trouble du métabolisme de la phényl-alanine est susceptible d'entraîner une activation générale des mécanismes de transamination. Ainsi, l'un quelconque des métabolismes cellulaires, s'il est inhibé ou entravé sous l'effet de l'actinomycine D pourrait être responsable de ces augmentations.

Il semble en réalité que l'action directe de l'actinomycine sur la synthèse des protéines concernant ces réactions de transamination, se porte au niveau d'une protéine inhibitrice de ces enzymes ; l'absence ou la carence en cet inhibiteur entraînant un accroissement d'activité. Comme nous l'avions signalé à propos des actions cellulaires de l'actinomycine (p. 10), une telle constatation avait déjà été notée par Rosen et Coll. (1964) concernant les transaminases alanine-et tyrosine-α cétoglutarique du foie de Rat.

Compte tenu de ce mode d'action, les diminutions d'activité observées principalement chez les Lapereaux à tendance convulsive pourraient résulter d'une atteinte d'un ordre différent : comme nous l'avons vu à propos de l'exploration du métabolisme des indoles, un certain nombre de nos animaux présentaient un syndrome apparenté à une hypo-vitaminose B6 ; la faible activité cérébrale des T.G.P. rencontrée dans 12 cas, et des T.G.O. dans 16 cas, semble venir confirmer ce point de vue, et ceci d'autant plus qu'il est étayé par un nombre important d'enregistrements de tracés contenant des grapho-éléments paroxystiques.

En résumé, nous nous trouvions en présence d'une alternative concernant l'interprétation du mode de l'action inhibitrice de l'actinomycine sur les mécanismes enzymatiques que nous avons étudiés :

— défaut de synthèse d'une protéine inhibitrice, et dans ce cas, nous observions un accroissement de l'activité de transamination ;
— inhibition du métabolisme de la vitamine B6, et dans ce cas, les réactions de transamination étaient déprimées, tandis que, suivant l'intensité de la carence vitaminique, l'activité bio-électrique corticale était plus ou moins altérée.

Il convient de considérer ce chapitre de biochimie comme un apport de données fragmentaires : l'entreprise d'une étude systématique approfondie aurait pu constituer en elle-même un travail de plusieurs années, à la mesure d'une équipe de chercheurs. Nous pensons en parti-

culier qu'il aurait été souhaitable d'établir les preuves des hypothèses que nous avançons à la lumière des résultats que nous avons obtenus, en pratiquant des déterminations quantitatives systématiques des métabolites que nous avons évalués, en effectuant des dosages de vitamine B6 sous ses différentes formes dans les liquides cellulaires, en faisant des épreuves de surcharge en pyridoxine... voire même, en utilisant des éléments traçeurs afin de localiser les points d'impact de l'actinomycine sur les chaînes métaboliques.

D'autre part, pour tenter de définir avec plus de certitude les liens existant entre ces atteintes métaboliques suspectées, et les anomalies fonctionnelles du système nerveux, il eut été notamment important de vérifier l'incidence du traitement tératogène sur le taux des amines cérébrales.

Cependant, ces critiques peuvent s'étendre au-delà du champ de recherche que nous avons envisagé, l'actinomycine étant à priori susceptible de créer des dysfonctionnements de tout mécanisme enzymatique.

Sans minimiser la valeur primordiale des éléments qui font défaut dans le présent travail, nous avons limité nos investigations biochimiques aux seules expériences que nous venons d'exposer ; notre propos initial était en effet de mettre en évidence la possibilité d'une corrélation entre les faits neurophysiologiques et les mécanismes du métabolisme cellulaire, en ménageant la priorité à l'expérimentation électrophysiologique.

Notre champ était par conséquent limité à la fois par des considérations techniques et par la nécessité de conserver leurs caractères propres aux fonctions bioélectriques corticales de nos animaux.

Toutefois, ce complément expérimental sur les incidences biochimiques du traitement tératogène à l'actinomycine D nous autorise à constater, pour l'essentiel, une relation de cause à effet entre les perturbations métaboliques et neurofonctionnelles de nos Lapereaux : suivant l'importance et suivant le lieu de son action, l'actinomycine a fait apparaître deux types d'anomalies, soit un retard de maturation biologique et fonctionnelle éventuellement compensé au cours du temps, soit une atteinte de mécanismes biologiques entraînant une suite de manifestations pathologiques.

Enfin, nous pensons pouvoir proposer avec de bonnes certitudes la participation d'une carence vitaminique B6 dans l'étiologie des anomalies les plus graves que nous avons observées sur le plan neurophysiologique.

C'est d'ailleurs dans cette même ligne de recherche que nous avons orienté notre expérimentation neuropharmacologique en essayant de définir les variations de la sensibilité de nos animaux aux agents convulsivants.

RESULTATS NEUROPHARMACOLOGIQUES

L'apparition d'une anomalie morphologique sous la forme d'une pigmentation noire du cortex, nous avait conduit à rechercher des troubles d'ordre métabolique permettant de l'expliciter, nous avons été amené à explorer partiellement une chaîne de réactions dans laquelle la pyridoxine joue un rôle fondamental.

Compte tenu des résultats de ces explorations, nous avons établi une relation entre le rôle important que l'on attribue aux carences en vitamine B6 dans la pathogénie des phénomènes convulsifs (voir à ce sujet les remarques p. 122) et il nous a semblé intéressant de tenter de définir les effets de l'actinomycine sur nos Lapereaux quant à la sensibilité de ces derniers aux convulsivants.

L'intérêt de cette étude nous est apparu plus net encore lorsque nous avons relevé des signes d'activités paroxystiques spontanées chez nos animaux actinomycinés dans des proportions nettement plus élevées que celles qui seraient susceptibles de se manifester en l'absence de traitement tératogène : nous rappellerons, en effet, que le bilan global des anomalies neurophysiologiques a fait ressortir 26 % de Lapereaux convulsifs ou sub-convulsifs.

Comme nous l'avons exposé dans la partie historique de ce travail, il existe des variations dans la sensibilité pharmacologique au cours du développement (p. 29 à 30) (1) et les agents convulsivants, en particulier, présentent une toxicité variable suivant l'âge du sujet. Nous avons vu, d'autre part, que dans les grandes lignes la maturation des activités paroxystiques était relativement connue (p. 36 à 38) (1).

Toutefois, aucune étude neurophysiologique systématique n'avait été entreprise, à notre connaissance, sur l'évolution du seuil d'action des convulsivants pendant le développement.

Par conséquent, nous nous sommes attaché à définir en premier lieu l'évolution de la sensibilité des Lapereaux témoins de différents âges pour ultérieurement mettre en évidence un abaissement éventuel du seuil convulsivant chez nos Lapereaux « actinomycinés ».

Nous avons choisi d'utiliser à ce titre le pentaméthylène-tetrazol (Cardiazol S.E.P.P.S.) en raison de sa relative maniabilité et du caractère fugace de son action, également en raison de son grand emploi, en clinique humaine, à la détermination du seuil convulsivant. Nous avons essentiellement veillé, au cours de cette expérimentation, à respecter au mieux le bon équilibre biologique de nos sujets : du fait que nous nous sommes adressé, dans la plupart des cas, à des animaux « chroniques », il importait, pour le bon maintien de leurs caractéristiques fonctionnelles, électrocorticographiques en particulier, de ne pas entraver leur nutrition par un apport répété, excessif, de substance convulsivante. L'étude préliminaire effectuée sur les animaux témoins nous a permis de délimiter les doses de l'agent convulsivant qui faisaient apparaître les signes convulsifs les plus discrets, pour une atteinte générale la plus minime.

L'examen E.Co.G. nous a paru le mieux adapté à ce travail compte tenu du caractère liminaire de l'action que nous nous proposions d'étudier.

Nous exposerons par conséquent successivement notre technique, le mode d'interprétation et les résultats que nous avons obtenus chez les animaux témoins et chez les « actinomycinés ».

TECHNIQUE

Nous avons utilisé des solutions de pentétrazol à 5 mg/ml, diluées dans une soluté stérile de chlorure de sodium à 0,9 %.

Pour chaque âge, nous avons pratiqué des injections intra-péritonéales à raison de 5 — 7,5, — 10 — 12,5 — 15 et 20 mg/kg.

---

(1) Afin de ne pas revenir sur les travaux antérieurs que nous avons déjà cités dans la partie historique de ce travail, nous renvoyons, pour la bibliographie intéressant cet exposé, aux premières pages du présent ouvrage.

Nous avons utilisé les dispositifs E.Co.G. décrits précédemment (p. 44 à 48) en donnant une préférence au montage chronique dans le but d'écarter au mieux la variabilité individuelle.

Avant chaque épreuve au Cardiazol, nous avons enregistré l'activité corticale spontanée des sujets pendant une période variable de 15 à 30 minutes et nous avons poursuivi l'enregistrement 30 minutes à 2 heures après l'injection.

Pour tous les animaux « chroniques » qui ont subi plusieurs épreuves nous avons systématiquement respecté une période de repos d'au moins 48 heures, afin de permettre une récupération la plus complète possible à la suite de chaque crise provoquée.

Pendant les périodes d'enregistrement le plus grand calme était respecté au voisinage de l'animal et celui-ci était l'objet d'une observation constante, afin de prendre note de ses réactions.

Compte tenu de la complexité des manifestations paroxystiques, nous avons eu à résoudre le problème de l'évaluation de leur intensité. Aux doses que nous avons employées, les manifestations cliniques motrices (crises cloniques et toniques) sont restées très discrètes et pour la plupart absentes ; nous nous sommes donc référé aux seuls éléments E.Co.G. en appliquant un barème d'interprétation. Toutes les réserves que nous avons déjà faites quant à l'aspect arbitraire de ce procédé restent entières (voir à ce sujet les remarques p. 74 et 111) ; en l'absence de traitement automatique approprié des enregistrements E.Co.G., nous avons dû, néanmoins, appliquer cette méthode.

MODE D'INTERPRETATION

Chaque tracé recueilli pendant l'épreuve au Cardiazol a fait l'objet d'un dépouillement minutieux au cours duquel nous avons relevé tout accident paroxystique.

Nous avons considéré simultanément la morphologie de ces grapho-éléments, leur localisation ou leur généralisation et leur durée.

En tenant compte de leur apparition successive lors de l'administration de doses croissantes de Cardiazol, nous avons établi un barème coté en signes $\pm$, $+$, $+\pm$, etc... suivant l'intensité des signes convulsifs E.Co.G. que nous avons observés.

La gradation que nous avons discernée est la suivante :

— maintien des caractéristiques du tracé spontané normal, soit action nulle de l'injection de convulsivant (O) ;

— activation du tracé avec apparition fugace d'ondes théta sur les dérivations frontales ou pariétales, diffusant éventuellement en bouffées synchrones sur l'ensemble du tracé ; dans ces cas, nous avons annoté l'expérience du signe $\pm$ (fig. 63, p. 141) ;

— lorsque ces mêmes phénomènes se sont manifestés avec persistance (plus de 10 secondes en moyenne), ou lorsque quelques rares bouffées d'activité rapide à 10-12 c/sec. se sont associées à des passages d'ondes théta diffuses, nous avons coté le tracé à un signe $+$ (fig. 64, p. 142) ;

— à notre cotation $+\pm$ correspond l'apparition d'ondes théta synchromes généralisées sur les dérivations frontales et pariétales associées soit à des bouffées rapides à 10-12 c/sec., soit à des bouffées d'ondes lentes à 3 c/sec. (fig. 61, p. 139) ;

— si les mêmes phénomènes apparaissaient en trains d'ondes prolongés éventuellement associés à quelques pointes diffuses (fig. 67, p. 145) nous avons marqué les tracés du signe $++$;

— nous avons considéré comme maximales $(+++)$ les manifestations paroxystiques comportant des pointes ondes, des trains d'ondes généralisées d'activités lentes ou rapides (fig. 58, p. 135).

A l'aide de ce barème nous avons pu suivre, au cours de l'âge, l'évolution des réponses E.Co.G. aux diverses doses de Cardiazol que nous avons administrées.

RESULTATS OBTENUS CHEZ LES LAPEREAUX TEMOINS

Les résultats que nous exposons ci-après correspondent à l'interprétation de 138 tracés sous Cardiazol.

Ces observations ont été faites sur des animaux d'un âge compris entre 2 et 20 jours.

Au cours de chaque épreuve, nous avons vérifié par un examen minutieux du tracé E.Co.G. enregistré avant l'injection de Cardiazol, l'absence de toute manifestation paroxystique spontanée, ou résiduelle chez les animaux « chroniques » qui étaient l'objet d'un nouveau traitement. Il s'est avéré que dans tous les cas la période de repos que nous avions fixée à 48 heures était suffisante pour éliminer toute séquelle de la précédente injection.

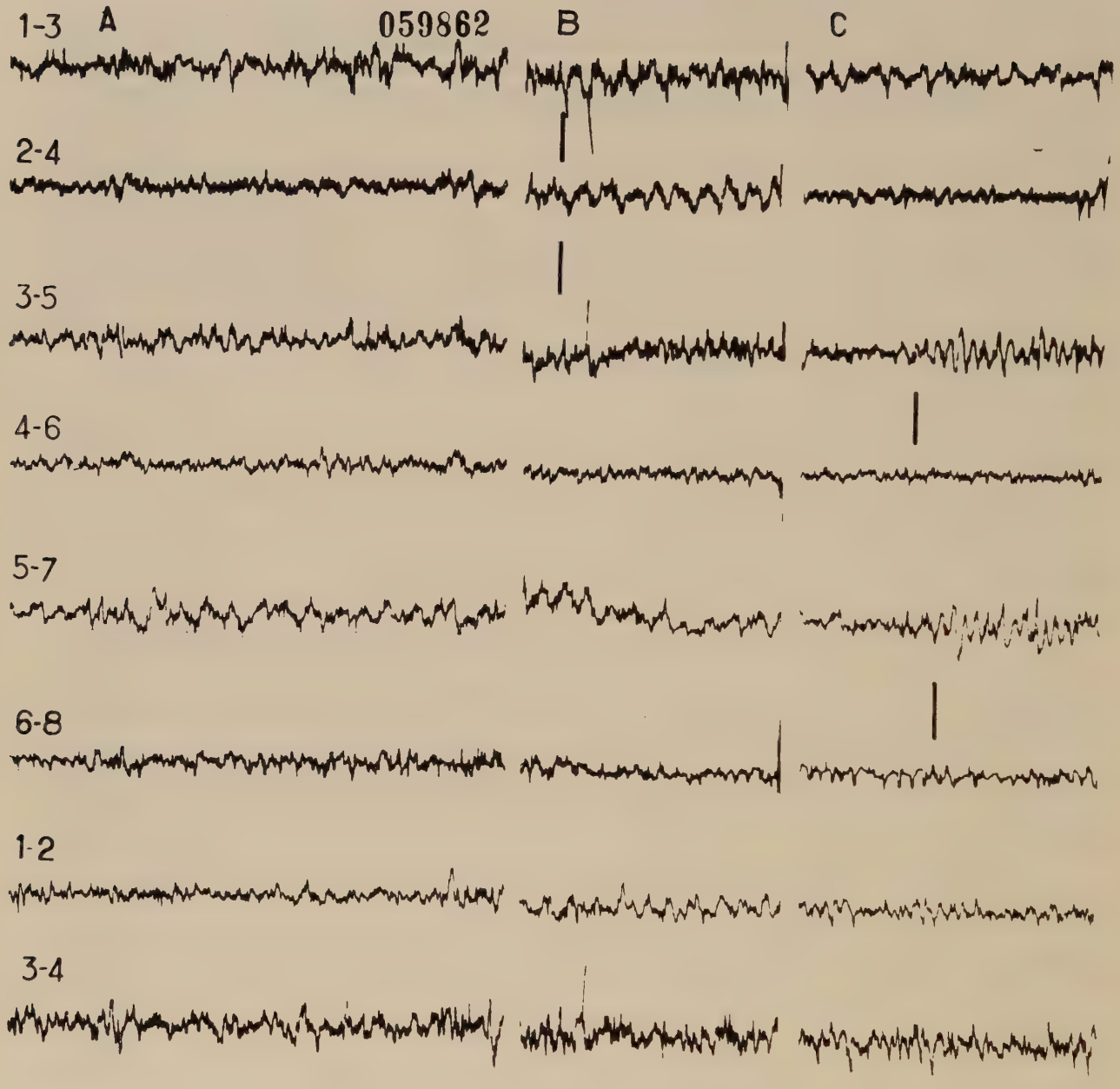
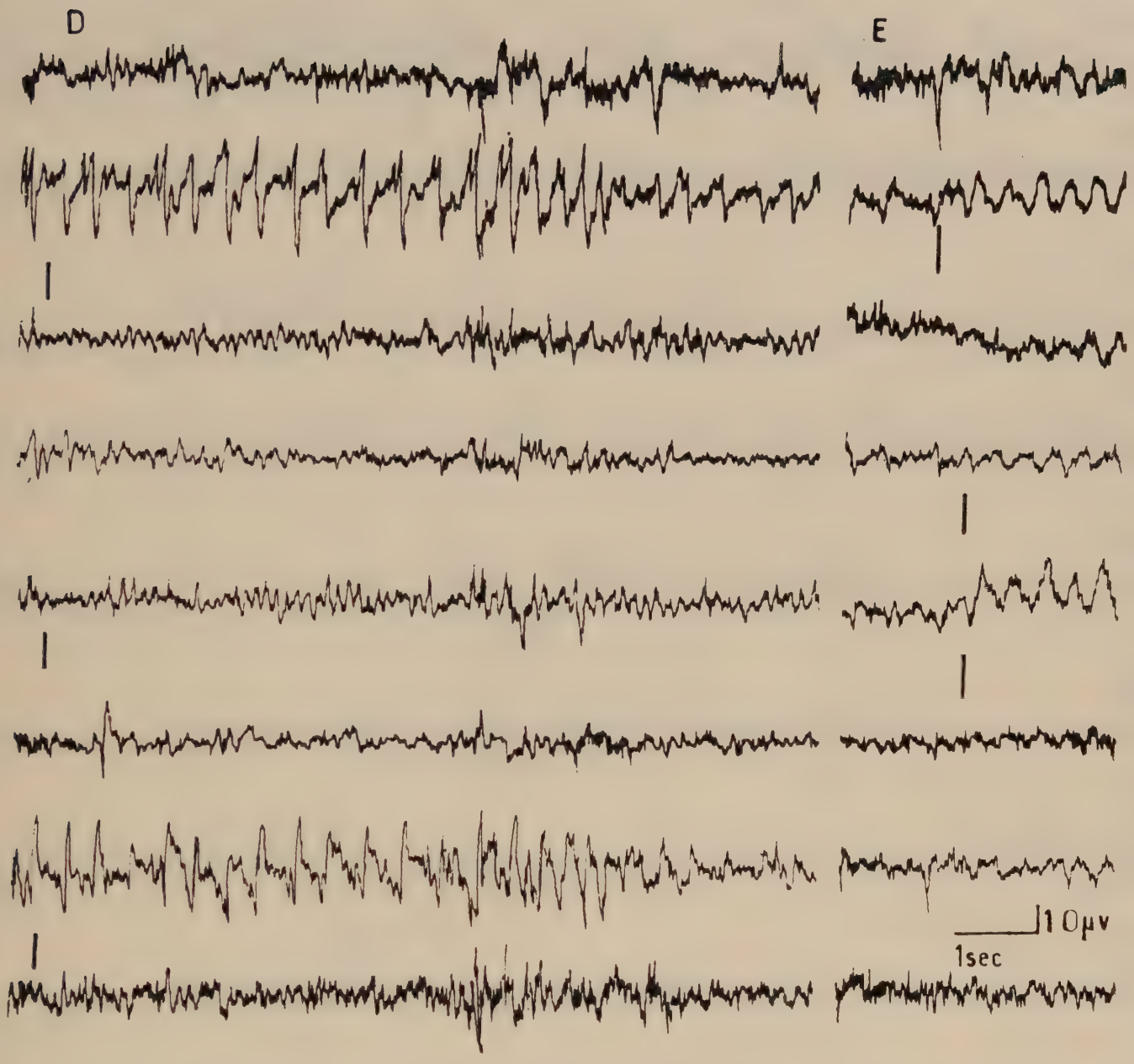


FIG. 58. — Enregistrement au 2e jour — épreuve au Cardiazol 5 mg/kg — +++
A — avant Cardiazol.
B — après 4' : ondes théta fugaces sur les dérivations antérieures et occipitales
C — après 14' : bouffées d'ondes amples à 6-7 c/sec.

D — après 16' : bouffées de pointes de longue durée individuelle
E — après 60' : persistance des ondes théta.


D
E
10μv
1sec

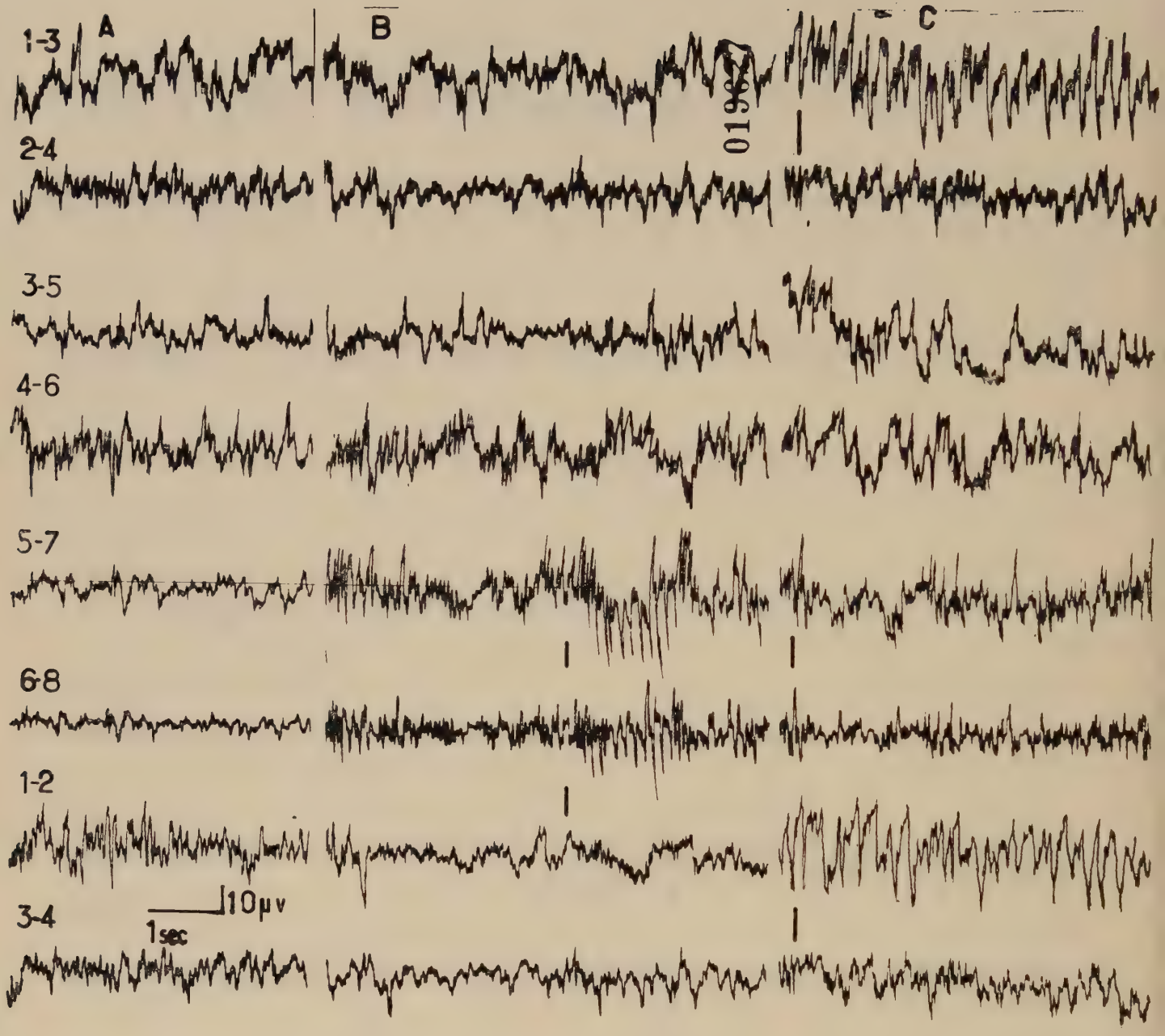
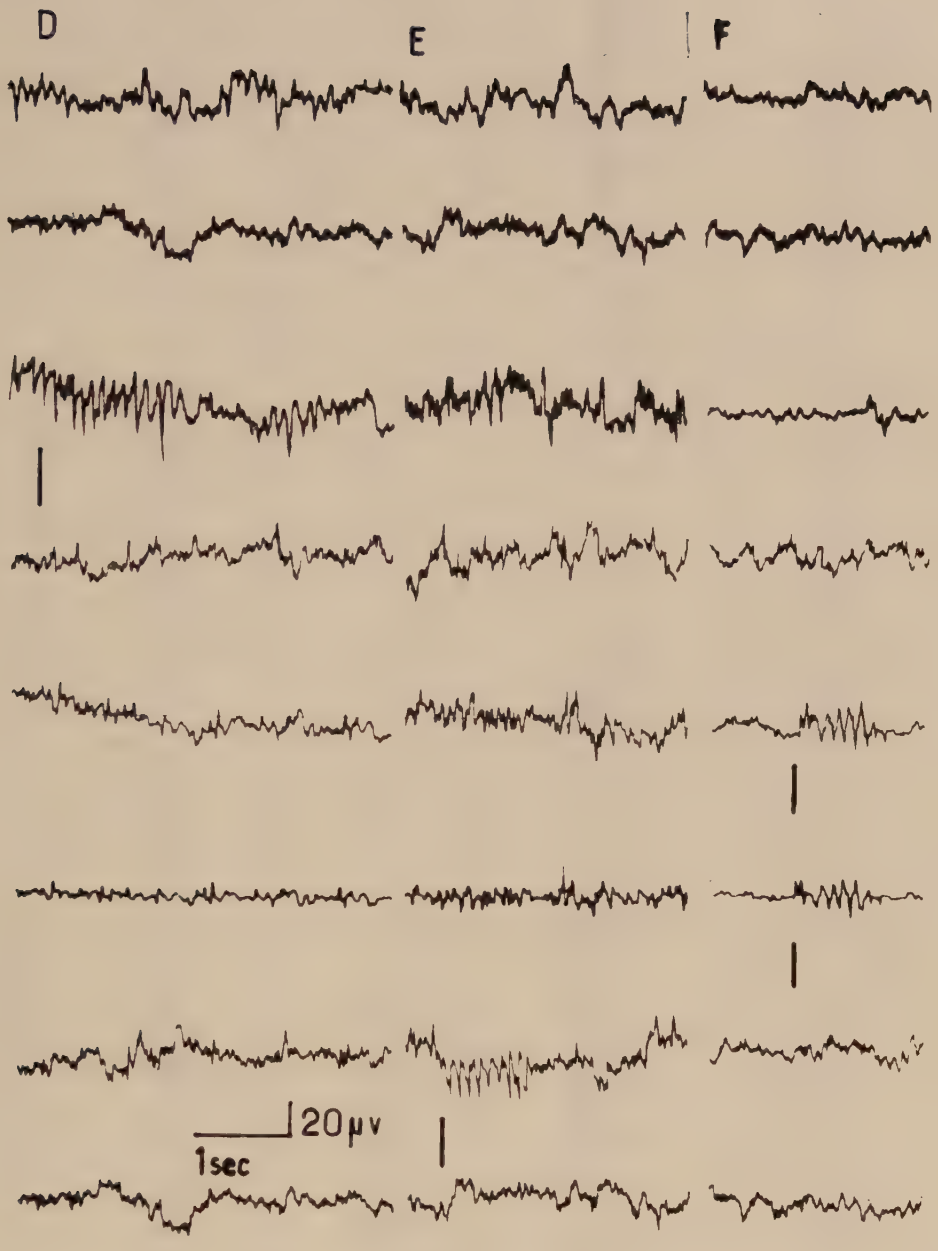


FIG. 59 — Enregistrement au 5e jour — épreuve au Cardiazol 15 mg/kg — ++.
A — avant Cardiazol
B — après 17' : bouffées de pointes rapides sur les dérivations occipitales
C — après 18' : pointes de longue durée individuelle.



D, E et F — après 22' : balancement de pointes discrètes à localisation pariétale, frontale, puis occipitale.

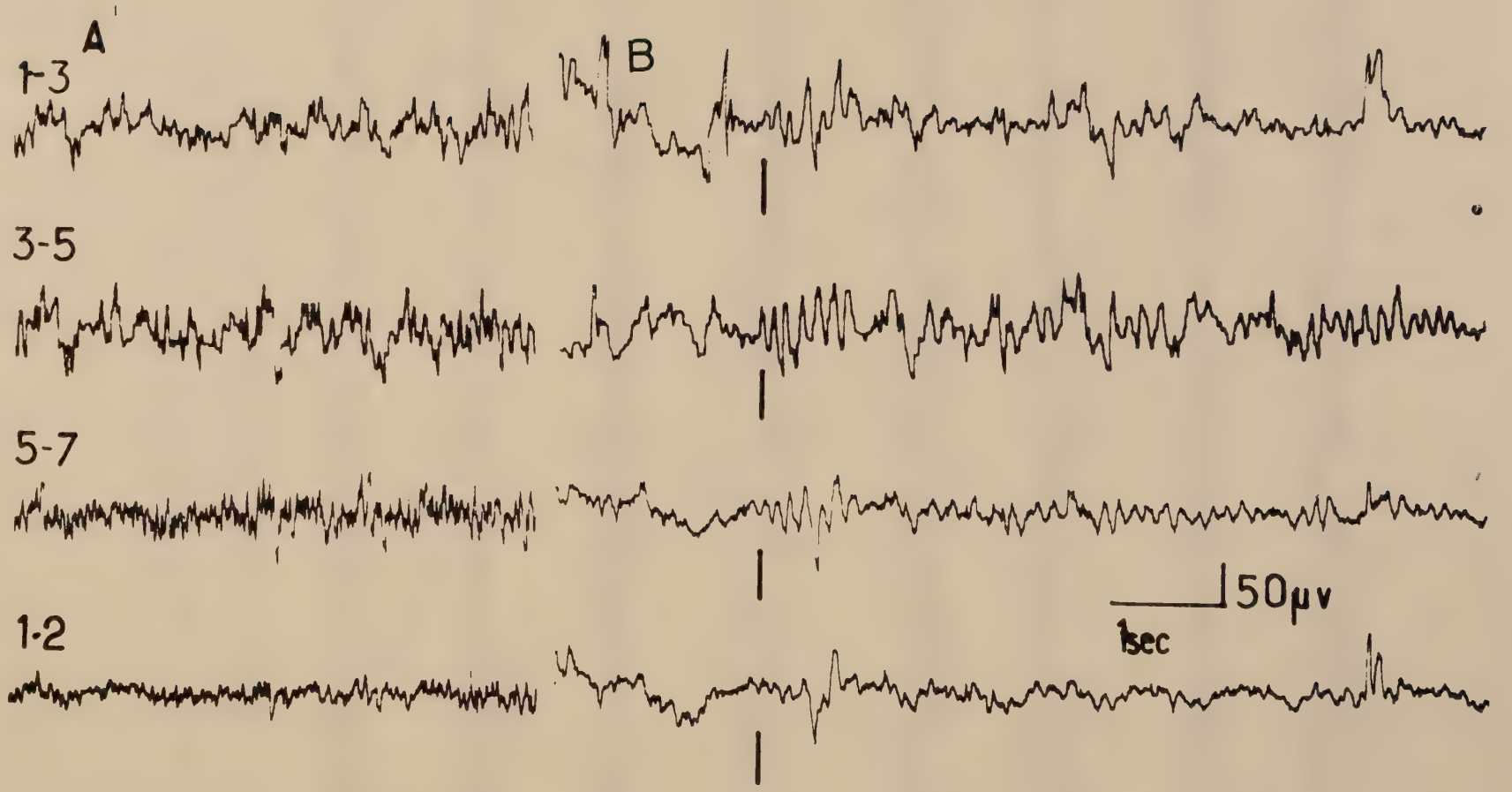


FIG. 60 — Enregistrement au 6e jour — épreuve au Cardiazol 10 mg/kg — +.
A — avant Cardiazol
B — après 3' : bouffées d'ondes à 6-7 c/sec.

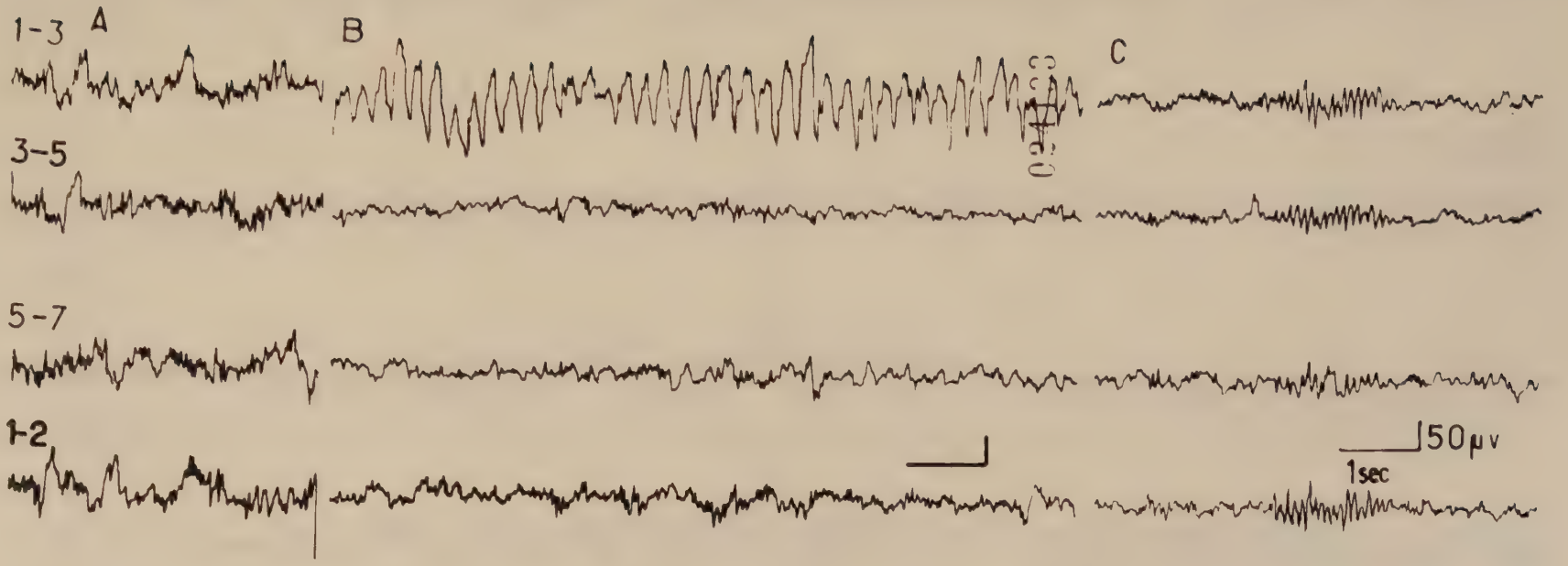


FIG. 61 — Enregistrement au 6e jour — épreuve au Cardiazol 12,5 mg/kg +±.
A — avant Cardiazol
B — après 15' : trains d'ondes lentes à 3-4 c/sec.
C — après 22' : brève bouffée généralisée de pointes rapides à 10-12 c/sec.

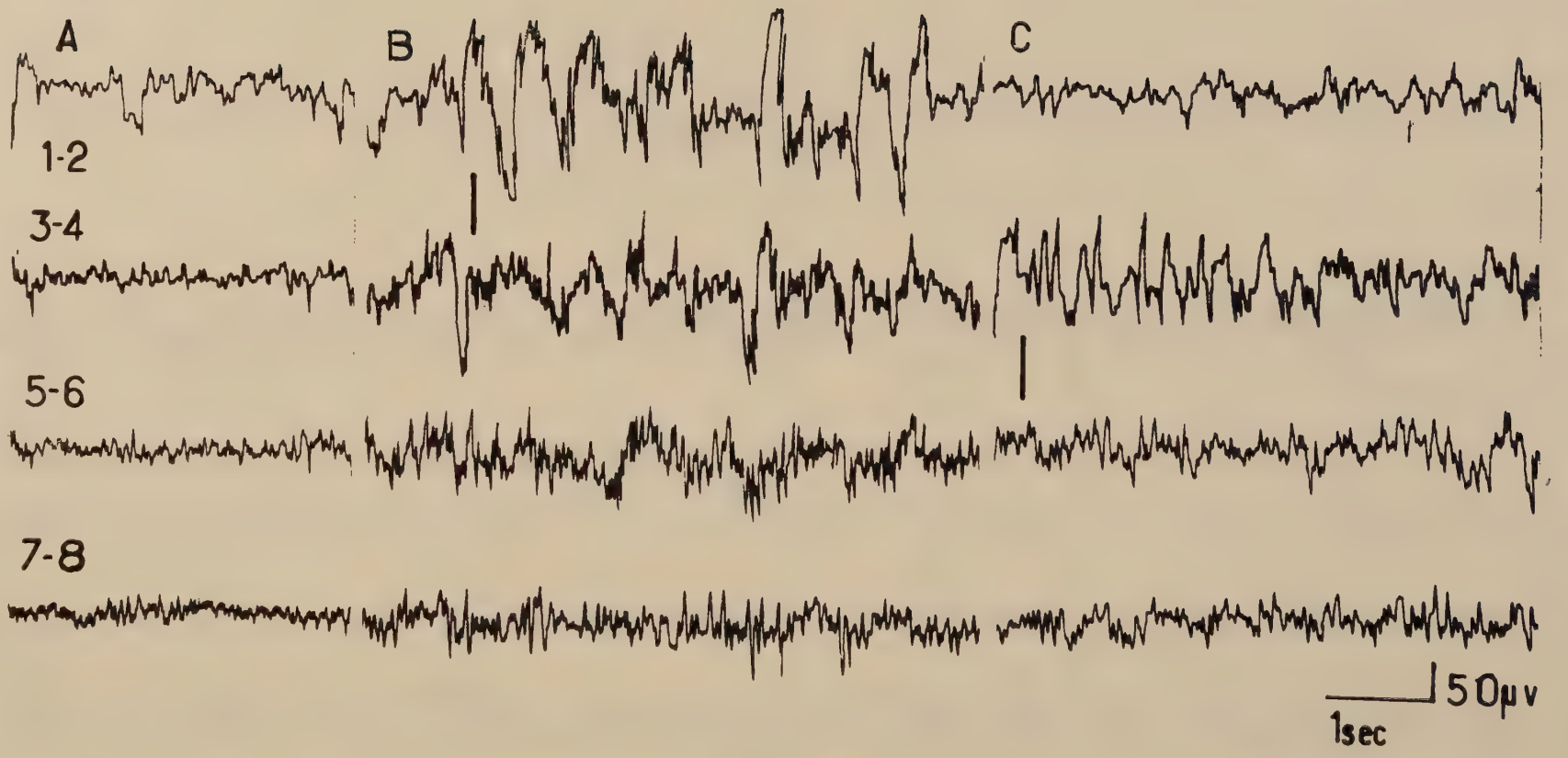


FIG. 62. — Enregistrement au 6e jour — épreuve au Cardiazol 15 mg/kg +±.
A — avant Cardiazol
B — après 13' : complexes pointe-onde
C — après 15' : pointes isolées sur la dérivation pariétale.

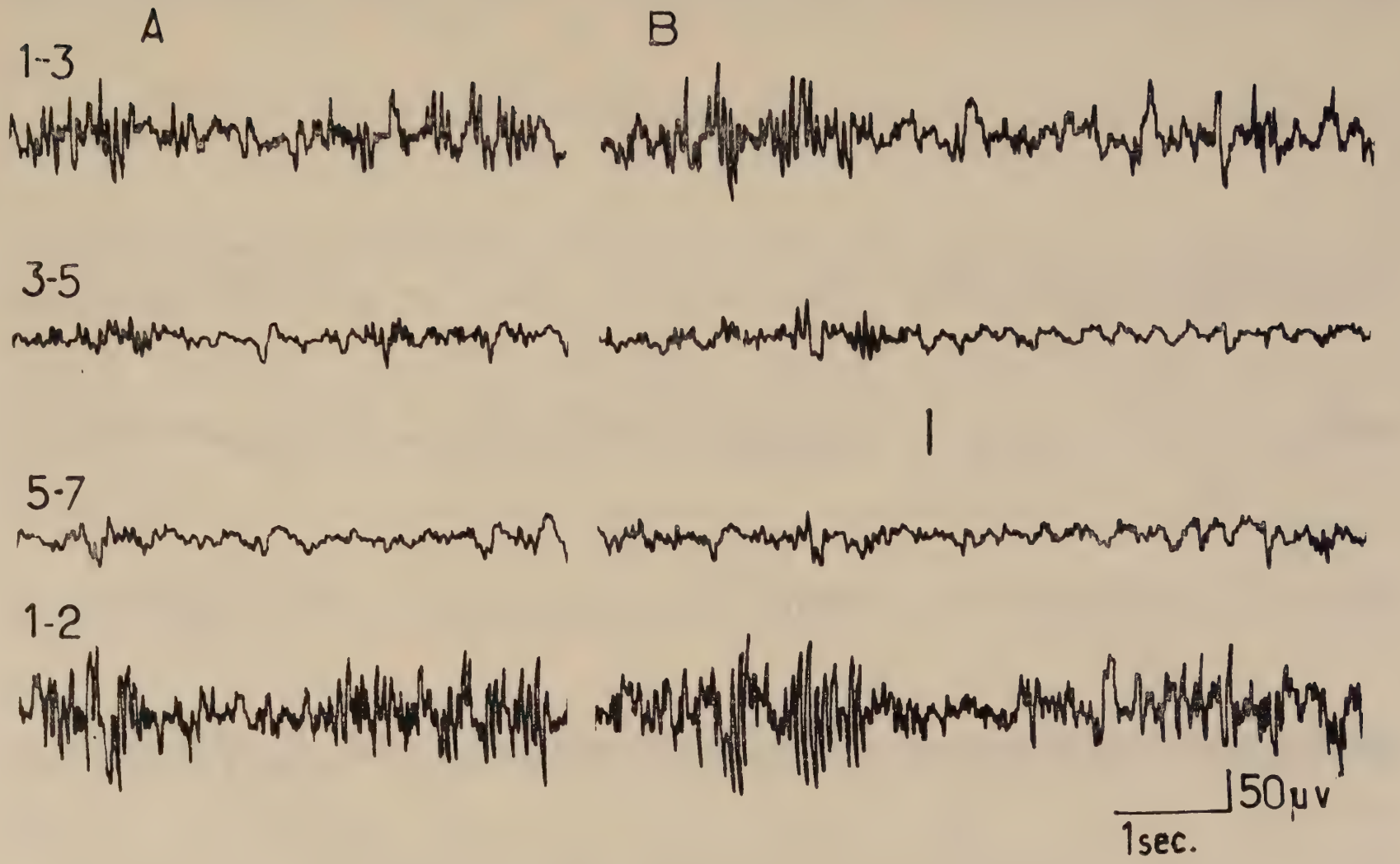


FIG. 63. — Enregistrement au 10e jour — épreuve au Cardiazol 5mg/kg ±.
A — avant Cardiazol
B — après 10' : passage discret d'ondes théta en pariétal.

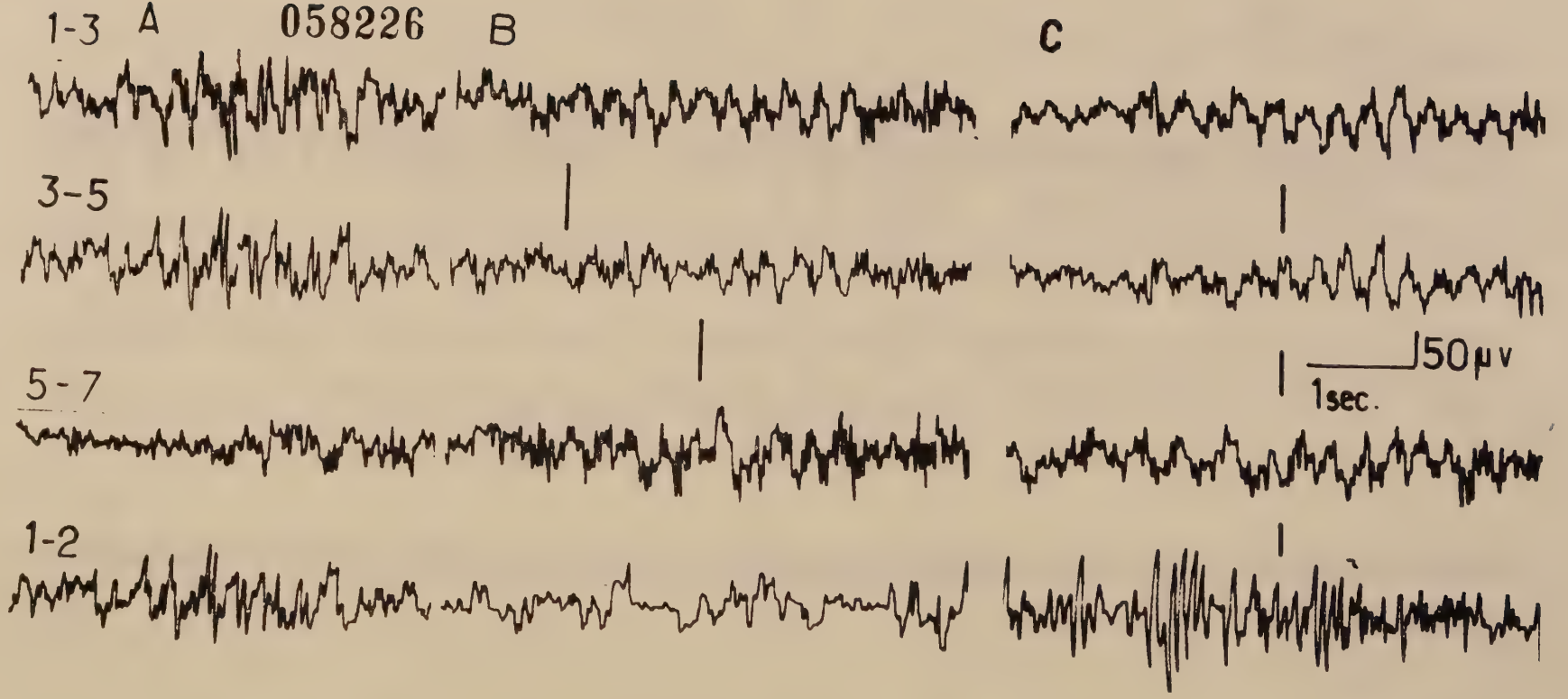


FIG. 64 — Enregistrement au 10e jour — épreuve au Cardiazol 10 mg/kg +.
A — avant Cardiazol
B et C — après 10 et 12' : diffusion d'ondes théta amples.

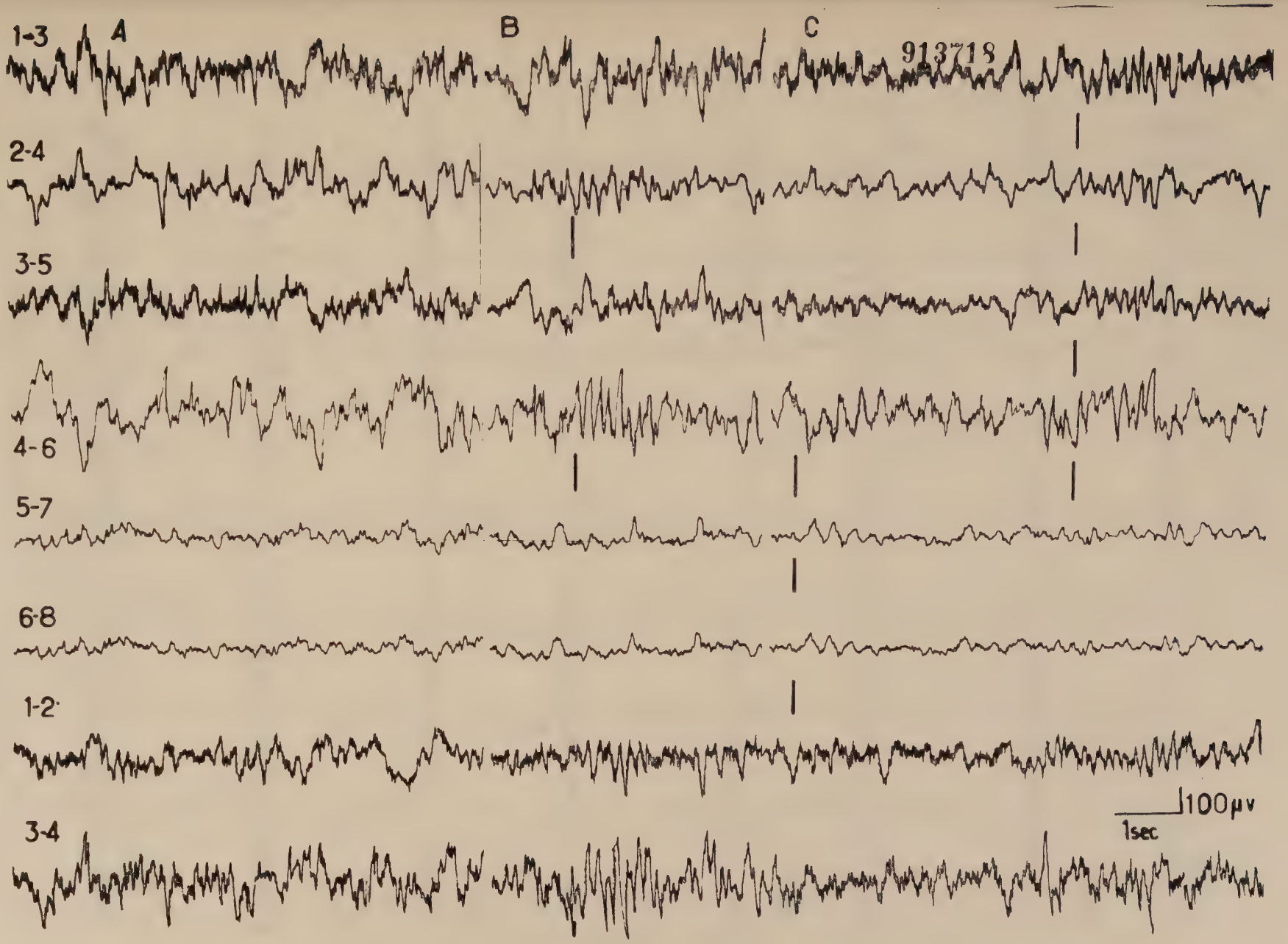


FIG. 65. — Enregistrement au 10e jour — épreuve au Cardiazol 15 mg/kg ++.
A — avant Cardiazol
B — après 5' : brève bouffée de pointes de longue durée individuelle
C — après 20' : apparition successive d'ondes théta brèves, amples en pariétal et de pointes de morphologie complexe à 6-7 c/sec.

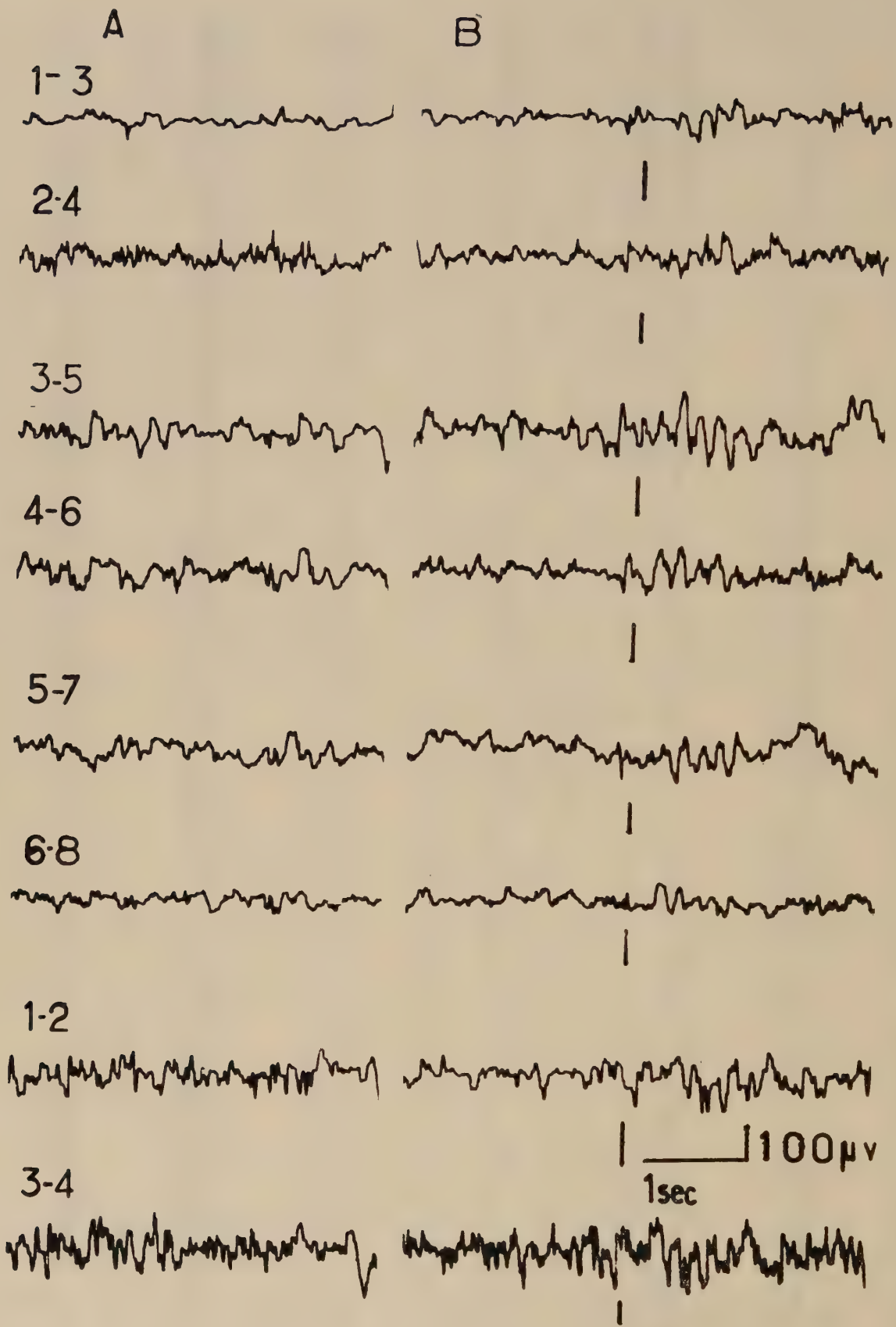


FIG. 66. — Enregistrement au 16e jour — épreuve au Cardiazol 7,5 mg/kg +±.
A — avant Cardiazol
B — après 3' : bouffée à tendance synchrone d'ondes lentes à 6-7 c/sec.

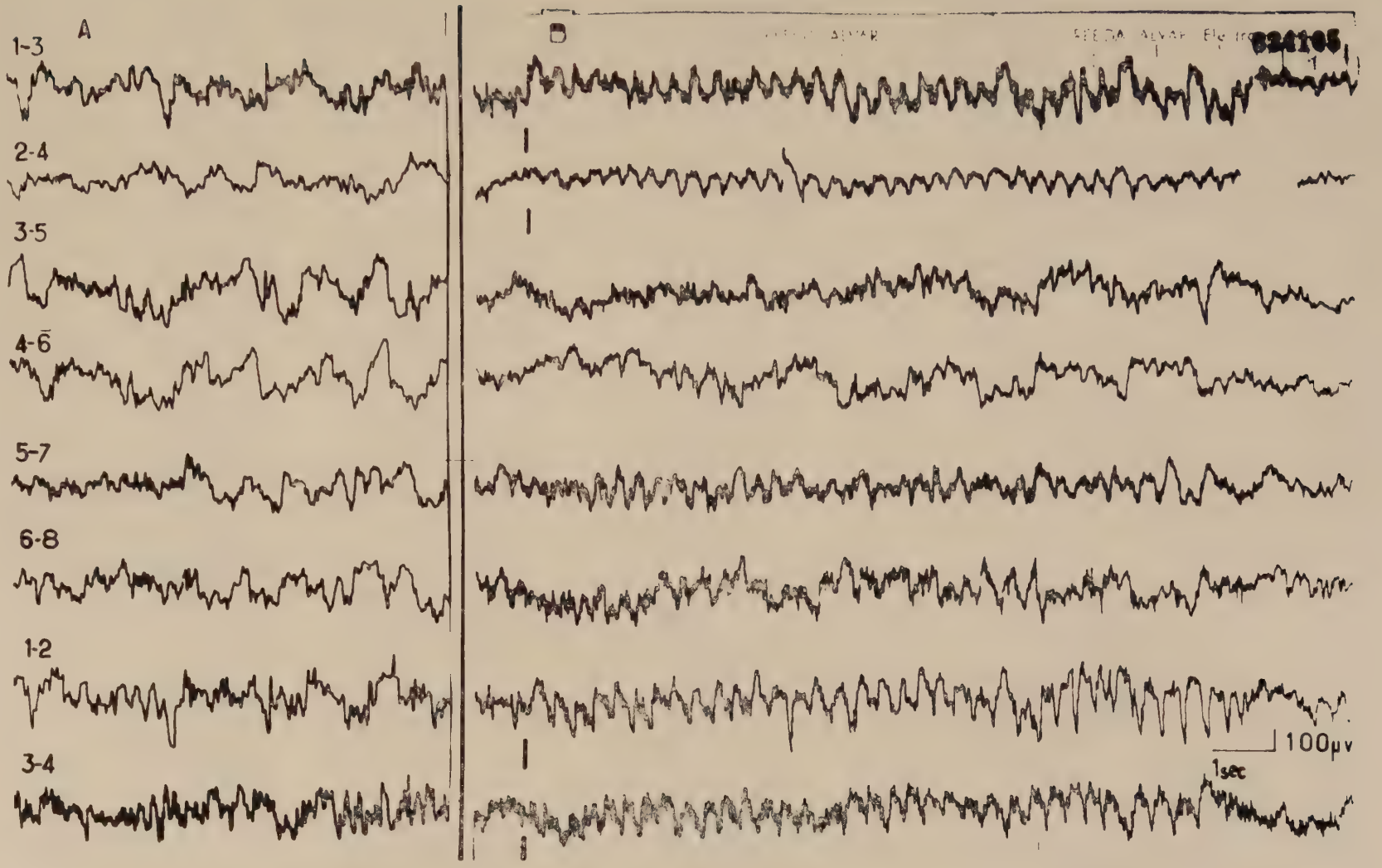


FIG. 67. — Enregistrement au 16e jour — épreuve au Cardiazol 10 mg/kg ++.
A — avant Cardiazol
B — après 15' : train prolongé d'ondes théta synchrones sur les dérivations frontales associé à quelques éléments de pointes.

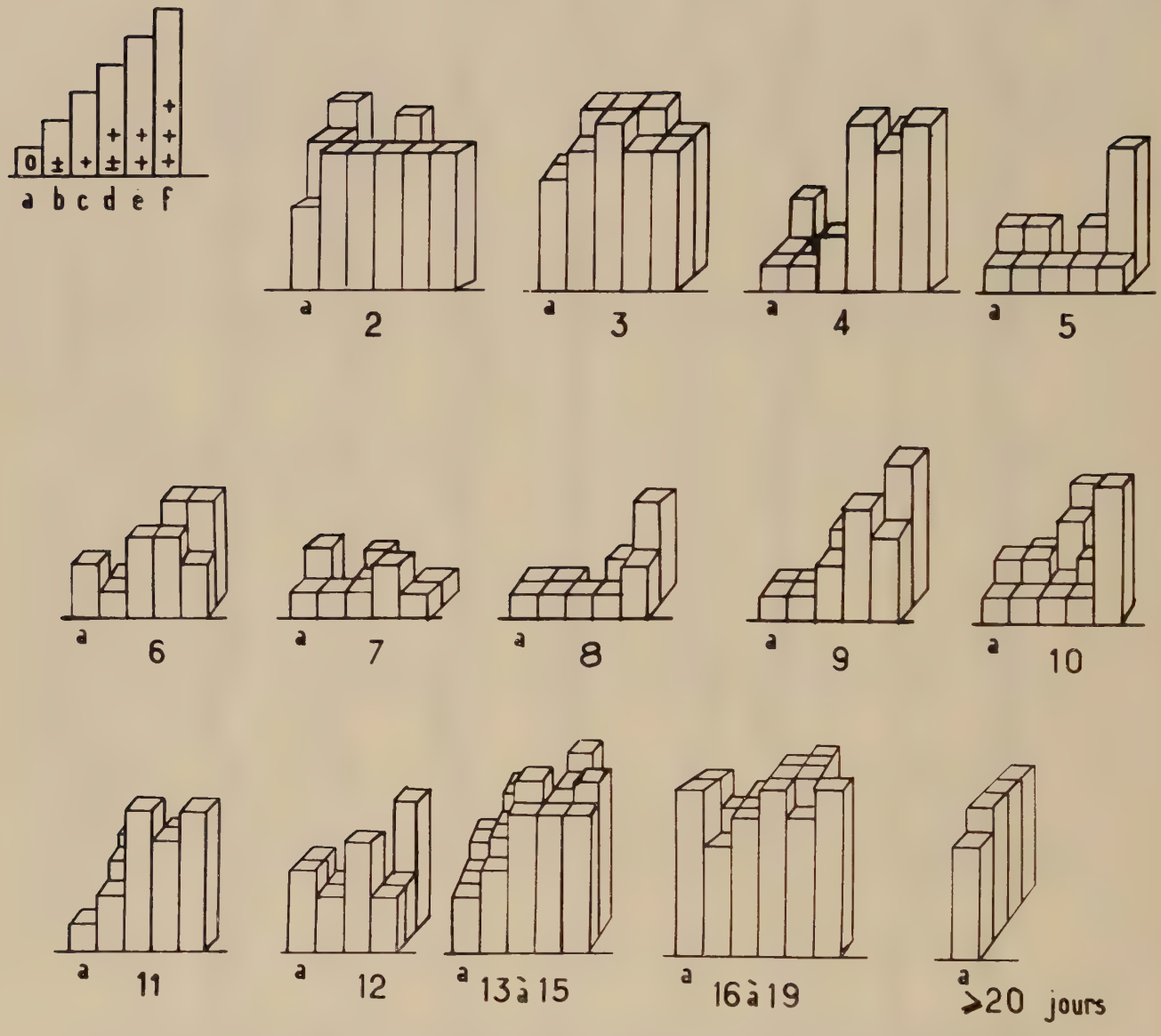


FIG. 68. — Schéma en trois dimensions des variations de l'intensité des réponses convulsives au Cardiazol en fonction de la dose administrée à différents âges. Chaque parallépipède représente une expérience, sa hauteur est proportionnelle à l'intensité de la réponse, sa position de gauche à droite correspond à la dose administrée :

a — 5 mg/kg, b — 7,5 mg/kg, c — 10 mg/kg, d — 12,5 mg/kg, e — 15 mg/kg, f — 20 mg/kg.

Les chiffres 2, 3, 4... représentent l'âge des sujets d'expérience exprimé en jours.

D'une façon générale, les grapho-éléments paroxystiques ont commencé à apparaître dans les 3 à 5 premières minutes qui suivaient l'injection de pentétrazol ; les crises convulsives éventuellement présentées étaient maximales entre la 10e et la 25e minute, en moyenne, puis les éléments pathologiques régressaient progressivement pour disparaître généralement 45 à 60 minutes après l'administration.

Comme nous l'avons signalé précédemment, les manifestations cliniques convulsives se sont rarement présentées. Tout au plus avons-nous constaté une agitation de l'animal, une augmentation de la durée des périodes d'éveil ; chez quelques animaux, les stimulations sonores en cours d'épreuve ont provoqué un soubresaut et quelques clonies des mâchoires ; dans quelques rares cas, et chez les animaux les plus âgés, pour les doses les plus fortes, nous avons assisté à des phases de convulsions cloniques brèves et pour la plupart limitées aux membres postérieurs.

Sur le plan E.Co.G., nous avons pu constater, en premier lieu, que le seuil « cardiazolique » du jeune Lapereau était supérieur au seuil convulsivant de l'animal adulte déterminé à 3-7 mg/kg (Longo [1962]) : au cours de cette expérimentation les premiers signes convulsifs ne sont apparus le plus souvent que pour des doses supérieures à 5 mg/kg.

Afin d'illustrer les variations de la sensibilité au cours de l'âge, nous avons représenté sur la figure 68 l'intensité des réactions au Cardiazol pour les différentes doses et aux différents âges.

Nous n'avons pratiqué aucune épreuve au Cardiazol chez les Lapereaux du premier jour, considérant que le choc de la naissance pouvait entâcher nos résultats.

Les Lapereaux du 2e et 3e jour ont manifesté une grande sensibilité, concrétisée par l'apparition de signes E.Co.G. paroxystiques les plus nets pour la dose la plus faible : bouffées d'ondes lentes de faible et moyenne amplitude, volées de pointes de grande durée individuelle et localisées pour 5 mg/kg (fig. 58).

Dès le 4e jour, cette sensibilité diminue nettement ; au 5e jour, la dose relativement élevée de 15 mg/kg ne fait apparaître occasionnellement que quelques pointes de morphologie diverse (fig. 59) et les doses inférieures ne donnent lieu qu'à des manifestations discrètes.

Cette élévation du seuil convulsivant s'installe durant les jours suivants : au 6e jour les doses de 5 à 10 mg/kg sont le plus souvent sans effet, au-dessus de 10 mg/kg, nous voyons apparaître des bouffées d'ondes théta, quelques pointes ou quelques ondes lentes discrètes (fig. 60 à 62). Le 7e jour semble marquer le stade de sensibilité minima (fig. 68).

Au-delà du 7e jour le seuil cardiazolique s'abaisse progressivement et l'on retrouve aux 9e et 10e jour quelques grapho-éléments paroxystiques mineurs pour 5 mg/kg, (fig. 63), des trains prolongés d'ondes théta pour 10 mg/kg (fig. 64), associés à quelques pointes de morphologie complexe aux doses supérieures (fig. 65).

Cette évolution se poursuit jusqu'au 15-16e jour où le seuil atteint sensiblement sa valeur définitive : bouffées synchrones d'activité théta pour 5 à 7,5 mg/kg (fig. 66), trains d'ondes théta tendant à se généraliser, accompagnés de pointes éparses pour 10 mg/kg (fig. 67), apparition de complexes pointe-onde pour 15 mg/kg.

Nous préciserons à propos des anomalies relevées sur les tracés représentés sur les planches 66 et 67 qu'il s'agissait en réalité d'une modification, par le Cardiazol, de la propagation d'ondes théta dont l'apparition en soi, à cet âge, est parfaitement normale : nous avons en effet constaté que l'effet convulsivant se manifestait, à ce niveau, par la prolongation, la généralisation et la synchronisation des activités théta.

Sans insister sur des faits qui sont établis depuis plusieurs années, nous signalerons cependant que nous avons retrouvé chez les Lapereaux les plus jeunes les caractères d'immaturité des signes paroxystiques tels que l'allongement de la durée des pointes, l'absence de généralisation des crises à l'ensemble du cortex, le manque de synchronisation des phénomènes sur les différentes dérivations, et d'autre part, la discrétion des accidents neuro-moteurs.

La nouveauté de ce travail réside dans la tentative de définition de la dose convulsivante seuil pour chaque âge. La représentation de la figure 68 montre nettement les différentes phases du développement de la sensibilité : pendant les 3 premiers jours les Lapereaux présentent une sensibilité maxima, entre le 4e et le 5e jour elle devient très nettement inférieure et les animaux du 7e et du 8e jour se montrent particulièrement résistants aux effets du Cardiazol ; suit une période de sensibilisation progressive qui s'étend jusqu'au 15-16e jour, au-delà de laquelle les doses les plus faibles provoquent d'emblée les effets les plus grands.

L'on peut voir à nouveau l'intérêt que pouvait présenter l'utilisation d'animaux porteurs d'électrodes à demeure pour étudier ce phénomène évolutif.

L'interprétation de ces résultats fait intervenir un certain nombre de facteurs susceptibles d'être à l'origine des fluctuations décrites ci-dessus. Comme nous l'avons énoncé dans notre rappel historique (p. 29 à 30), les rapports entre l'ontogénèse et la pharmacodynamie tiennent à la fois au taux d'absorption du médicament, en l'occurrence à la perméabilité de la barrière hémo-méningée, au degré de maturité des systèmes catabolisants de la molécule active, à la maturation fonctionnelle des centres intéressés par ces effets.

La mise en jeu de la barrière hémo-méningée ne semble pas être en cause dans les variations de sensibilité que nous avons constatées : en effet, comme nous l'avons signalé plus haut, le délai d'apparition des signes convulsifs est demeuré sensiblement constant d'un âge à l'autre et, d'autre part, la « fermeture » de la barrière hémo-méningée, au 9-10e jour, ne saurait être à l'origine de l'abaissement progressif du seuil d'action à partir de cette date.

Il nous semble, par conséquent, que seuls les facteurs de maturation enzymatique et fonctionnelle soient en cause.

L'étude pharmacologique du Cardiazol entreprise par Laborit et Weber (1965) sur divers organes isolés a montré que cette substance agissait essentiellement comme un activateur de la voie glycolytique anaérobie, et accessoirement de la voie tricarboxylique. Nous avons vu quelle était la succession de la prépondérance de ces deux voies métaboliques l'une par rapport à l'autre (p. 22 à 24). Dans la mesure où l'activation du métabolisme des hydrates de carbone peut être à l'origine de l'excitation paroxystique des centres nerveux, il est concevable que la grande sensibilité observée dans les premiers jours soit le fait de la prépondérance du mécanisme glycolytique anaérobie. Au fur et à mesure de la maturation, le développement des chaînes enzymatiques de la voie tricarboxylique qui prennent le pas sur la chaîne d'oxydation en anaérobie, serait conjointe à la diminution de la sensibilité, étant donné la faible susceptibilité des enzymes du cycle de Krebs à l'activation par le pentétrazol.

Au-delà du 10e jour, lorsque la maturation des chaînes enzymatiques du métabolisme oxydatif parvient sensiblement à terme, l'enrichissement anatomique en connexions axodendritiques sous-cotico-corticales entraînerait l'abaissement progressif du seuil « cardiazolique » des manifestations paroxystiques au niveau du cortex.

L'existence d'effets liminaires produits par les doses les plus faibles que nous avons employées, plus particulièrement dans la période de moindre sensibilité (du 4e au 8e jour), devait nous permettre de nous rendre compte d'une augmentation éventuelle de la susceptibilité au Cardiazol chez nos animaux « actinomycinés ».

RESULTATS OBTENUS CHEZ LES ANIMAUX « ACTINOMYCINES »

Nous avons soumis 67 animaux de ce groupe aux épreuves au Cardiazol, nos résultats portent sur l'interprétation de 90 tracés.

Afin de faciliter la confrontation des données avec celles que nous avons exposées au cours des chapitres précédents, nous avons repris un à un les résultats obtenus en les classant suivant l'ordre initial déterminé par les doses d'actinomycine administrées pendant la gestation.

Dans la mesure où les animaux témoins avaient présenté un seuil convulsivant particulièrement élevé dans la période qui s'étend du 5e au 10e jour, c'est essentiellement à ce stade que nous avons cherché à mettre en évidence un abaissement anormal du seuil cardiazolique chez les Lapereaux « actinomycinés », en employant des doses convulsivantes faibles (5 ou 7,5 mg/kg).

Parmi le **groupe A** (actinomycine D : 20 µg/kg/j pendant 5 jours), les Lapereaux de 2 portées ont subi cette expérimentation : Ch 163 et MAc 46 2906-1 se sont distingués pour leur sensibilité supérieure à la normale ; en particulier, le Ch 163 qui a reçu au 8e jour une dose de 10 mg/kg s'est singularisé par des passages d'ondes lentes à 2-3 c/sec. 3 minutes après l'injection, enregistrées en longues périodes entre 15 et 20 minutes (fig. 69).

De même, les Lapereaux Ch 183, 184 et 185-2951 ont montré une sensibilité au Cardiazol nettement augmentée lors d'épreuves pratiquées aux 4e, 5e et 8e jours ; cette diminution du seuil cardiazolique était particulièrement marquée pour le Ch 184 (12,5 mg/kg au 5e jour) chez qui nous avons enregistré de nombreux passages de poly-pointes rapides, parfois organisées en bouffées généralisées à 10-12 c/sec.

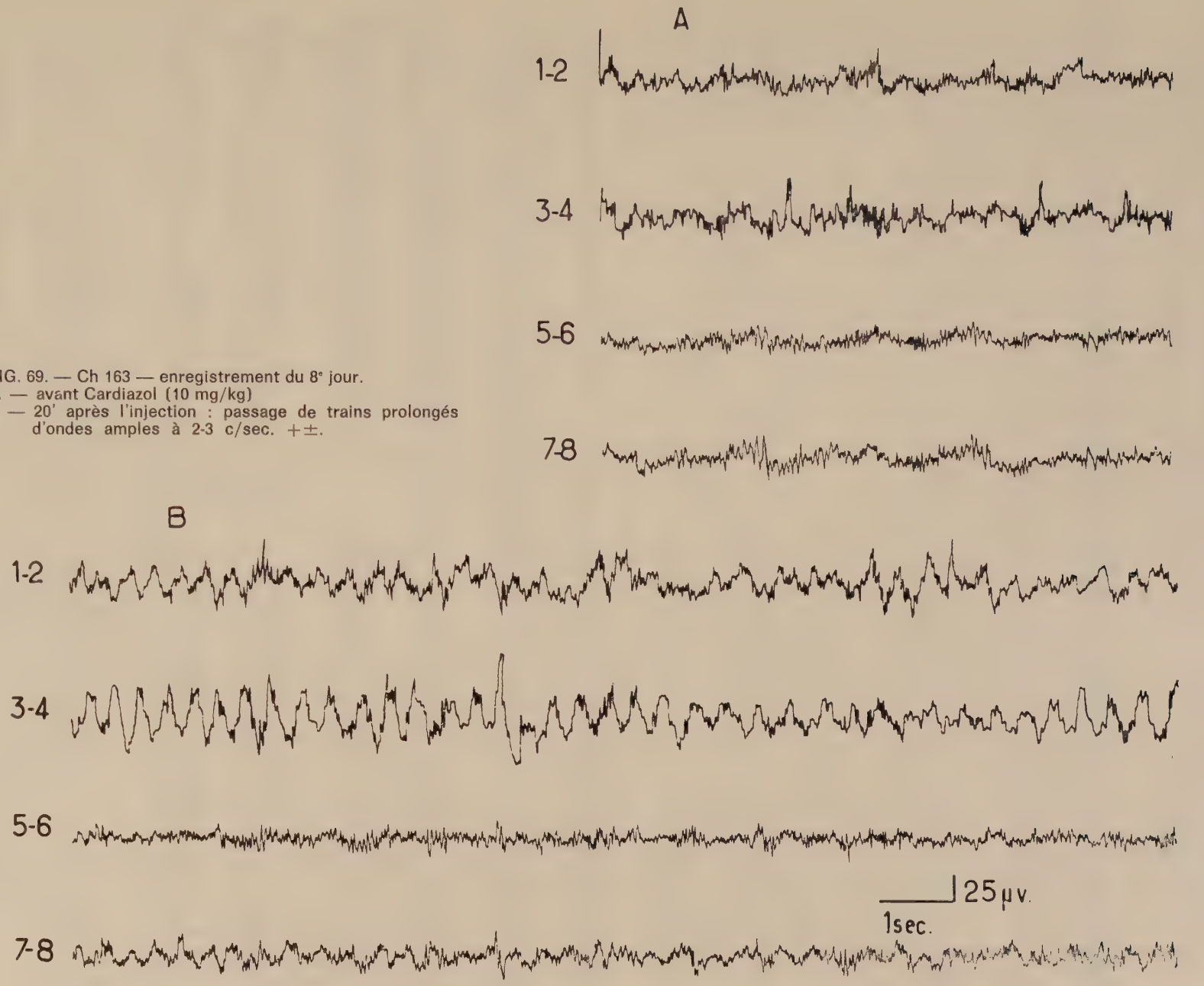


FIG. 69. — Ch 163 — enregistrement du 8e jour.
A — avant Cardiazol (10 mg/kg)
B — 20' après l'injection : passage de trains prolongés d'ondes amples à 2-3 c/sec. +±.

Tous ces animaux avaient un ou plusieurs frères dont le tracé spontané contenait des grapho-éléments paroxystiques ; leurs propres tracés montraient un retard de maturation à l'exception du Ch 185 dont l'activité E.Co.G. était normale.

Sur le plan biochimique, les activités cérébrales de transamination étaient faibles pour MAc 46 ; les T.G.O. des trois Lapereaux 2951 étaient au-dessus de la normale.

Sur 5 animaux appartenant au **groupe B** (25 µg/kg/j pendant 5 jours) 3 ont montré une légère diminution de leur seuil convulsivant : Ch 171-2827-1 à partir du 11e jour, Ch 177-2944 et Ch 178-3067 au 10e jour. Rappelons que cette portée comptait un hydrocéphale et quelques animaux présentant des troubles paroxystiques spontanés ; en outre, les mesures des activités T.G.O. cérébrales se sont montrées nettement inférieures à la normale.

Notons que les épreuves pratiquées avant et après cette date au 6e et au 13e jour, chez Ch 178 avaient donné des résultats sensiblement normaux ; les frères de ce Lapereau, Ch 179 et MAc 66 traités respectivement au 7 et au 10e jour se sont révélés normalement sensibles.

A l'exception des Lapereaux 2827-1 dont nous avons rappelé les résultats antérieurs, les animaux de ce groupe possédaient des tracés E.Co.G. normaux et des T.G.O. cérébrales généralement augmentées.

Quinze Lapereaux, répartis dans 6 portées du **groupe C** (30 µg/kg/j pendant 5 jours) ont fait l'objet de cette expérimentation.

Les différents enregistrements pratiqués sous Cardiazol pour les Ch 79, 80 et 81 2730-2 ont rendu compte d'une réactivité normale de leurs activités E.Co.G. ; par contre, le Lapereau MAc 34 s'est révélé particulièrement sensible au Cardiazol : l'administration de 7,5 mg/kg au 12e jour a entraîné l'apparition répétée de bouffées très amples de polypointes : 10-12 c/sec. entre la 5e et la 20e minute suivant l'injection. Ces animaux ont été signalés précédemment pour leurs retards de maturation E.Co.G. et de maturation de la chaîne enzymatique de la synthèse de sérotonine.

Le Ch 59-2821 a présenté des réactions d'intensité normale, compte tenu de ses tendances sub-convulsives spontanées.

Toutes les épreuves effectuées sur les Ch 60, 61 et 65-2826-1 se sont avérées normales, au même titre que leurs examens neuro-physiologiques.

Les deux Lapereaux MAc 32 et Ch 76 de la portée 2615-1 ont également montré une sensibilité normale au Cardiazol. Ces deux Lapereaux étaient les seuls animaux de cette portée dont le tracé spontané ne présentait qu'un retard de maturation, tandis que leurs frères étaient marqués par des troubles paroxystiques ; nous avons vu que la portée entière était atteinte par ailleurs d'anomalies morphologiques et biochimiques apparentées au syndrome de Hartnup.

Les animaux Ch 120 et 121, MAc 40, issus de la portée 3053-1 ont également montré une sensibilité normale au Cardiazol, seul MAc 46 s'était distingué sur le plan neurophysiologique par un retard de maturation.

Au contraire, les deux Lapereaux MAc 45 et Ch 162-2826-2 soumis à cette épreuve aux 9e et 11e jours se sont révélés très sensibles aux injections, celles-ci ayant entraîné l'apparition de volées de pointes isolées ou de bouffées d'activité rapide et ample plus ou moins généralisées à l'ensemble du tracé (fig. 70).

Les examens neurophysiologiques de cette portée avaient permis de détecter une forte tendance convulsive spontanée, associée sur le plan biochimique à une forte élimination de 5 HTP puis de 5 HIAA, complétée d'une dépression des activités T.G.O. cérébrales.

Ceci représente pour l'ensemble du groupe C un abaissement du seuil cardiazolique pour 20 % des Lapereaux, dans la mesure où cette fraction de 15 animaux étudiée sur un ensemble de 20 épreuves permet une telle extrapolation.

Parmi les animaux du **groupe D** (35 µg/kg/j pendant 5 jours) nous avons examiné la portée 2677-1 : l'hydrocéphale (MAc 29) et le « pied-bot » (Ch 69) ainsi que leur frère MAc 31 se sont montrés normalement sensibles au Cardiazol, tandis que le dernier animal soumis à cette épreuve (Ch 72) a présenté un abaissement transitoire de son seuil convulsif, contemporain d'un retard de maturation E.Co.G. qui a, lui aussi, régressé.

Pour la portée 2689-2 où l'ensemble des examens s'était révélé normal, à l'exception du retard E.Co.G. du Ch 82, nous avons noté une forte sensibilisation pour ce même animal et pour le Ch 83, seul MAc 37 a présenté un seuil cardiazolique normal.

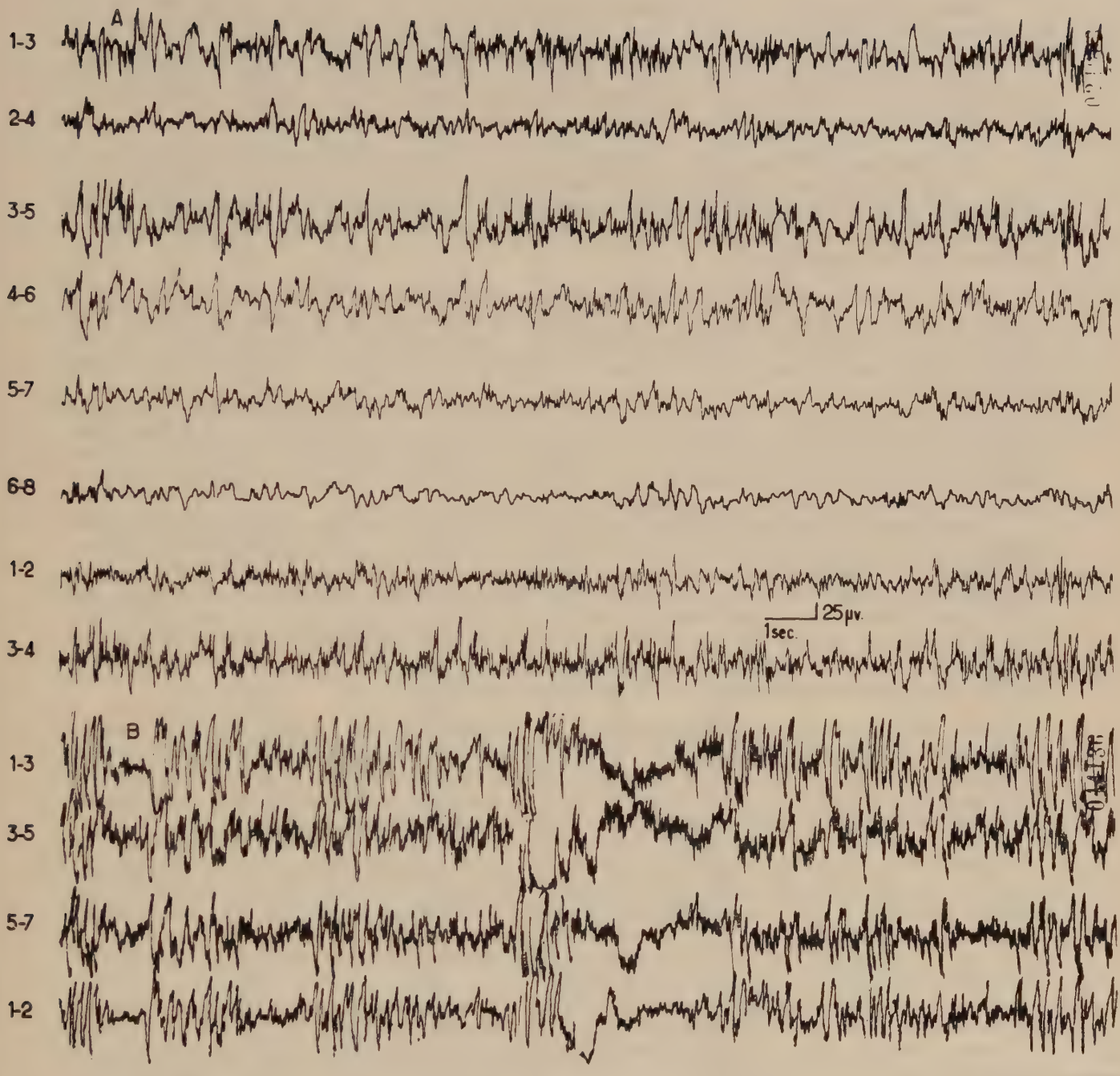


FIG. 70. — Ch 162 — enregistrement du 11e jour.
A — avant Cardiazol (5 mg/kg)
B — 20' après l'injection : accélération du tracé et bouffées de pointes synchrones ++

Sur les quatre Lapereaux Ch 130, 133 et 134 et MAc 42-2882-1, seul ce dernier possédait un seuil cardiazolique infra-liminaire. L'examen neurophysiologique de cette portée avait permis de déceler quelques manifestations paroxystiques spontanées chez certains de ces animaux.

Dans la portée 2882-2, caractérisée par une tendance sub-convulsive de quelques-uns de ses animaux, MAC 47 et 48, de même que le Ch 164, ont montré une très nette diminution de leur seuil convulsivant, particulièrement accusée chez Ch 164 (fig. 71).

Enfin, les cinq Lapereaux de la portée 3018 se sont révélés normalement sensibles aux injections de pentétrazol, malgré une relative tendance convulsive, et malgré l'infériorité de leurs activités cérébrales de transamination par rapport à la normale.

Il en résulte pour l'ensemble des animaux issus de portées traitées à l'actinomycine du 7e au 11e jour de gestation, et soumis à la présente expérimentation, un bilan partiel portant sur 44 épreuves dont 18 ont donné des résultats permettant de conclure à une diminution du seuil de sensibilité au pentétrazol, soit 41 % d'anomalies. Nous reprendrons en détail la discussion de ces chiffres à la fin de ce chapitre.

Nous avons étendu cette expérimentation aux animaux issus de portées traitées au 9e jour de la gestation. Dans le **groupe F** (40 µg/kg) les Lapereaux de la portée 2883, Ch 172 et 173 marqués d'une tendance convulsive spontanée sans corrélation biochimique, et le Ch 175 lui-même normal sur l'ensemble des examens pratiqués ont manifesté une réactivité normale au Cardiazol.

Par ailleurs, pour un résultat normal (MAc 50), nous avons constaté une nette augmentation de la susceptibilité convulsive chez MAc 49, tous deux appartenant à la portée 2859, signalée aux chapitres précédents pour la présence d'une malformation des membres, la propagation sur le tracé E.Co.G. d'activités paroxystiques, associée à une nette infériorité des activités cérébrales T.G.O. et T.G.P. par rapport à la normale.

Dans ce même groupe, les deux animaux de la portée 3070 ont présenté l'un et l'autre un seuil convulsivant très bas, en particulier MAc 51 chez qui de simples stimulations lumineuses faisaient apparaître de brèves bouffées paroxystiques (fig. 72) tandis que l'administration de 10 mg/kg de Cardiazol au 8e jour entraînait une crise généralisée de pointes et d'ondes lentes de grande amplitude éventuellement associées en pointes-ondes (fig. 73) ; une dose inférieure (7,5 mg/kg) administrée à son frère MAc 52 au 9e jour a provoqué des bouffées sporadiques d'ondes lentes à 2-3 c/sec. (fig. 74). Aucune autre anomalie n'avait été constatée chez ces animaux lors des expérimentations exposées précédemment.

Sur les quatre Lapereaux de la portée 2952 du **groupe G** (50 µg/kg au 9e jour) soumis aux épreuves au Cardiazol, seuls les Ch 167 et 170 ont montré une sensibilité supérieure à la normale, encore celle-ci revint-elle à un degré comparable aux témoins dès le 13e jour. L'examen neurophysiologique de cette portée avait mis en évidence des manifestations sub-convulsives chez un animal et un cas de retard dans la maturation des activités évoquées.

Enfin, dans le **groupe H** (60 µg/kg au 9e jour), sur neuf Lapereaux examinés, aucune anomalie n'a été relevée dans une première portée (4510-2), il en avait été de même lors des examens précédents ; deux sur trois des Lapereaux 4511-2 soumis aux épreuves au Cardiazol ont réagi normalement — leurs tracés spontanés étaient affectés de retards de maturation — tandis que le Ch 94 s'est révélé particuliculièrement sensible en développant une crise convulsive avec pointes-ondes au 7e jour pour 7,5 mg/kg.

Les cinq animaux de la portée 3053-2 soumis à des doses diverses, à différents âges, ont tous montré une sensibilité anormale vis-à-vis du pentétrazol, toutefois le Ch 180 est revenu à un seuil normal au 13e jour. Les résultats préalablement exposés pour cette portée rendaient compte de retards de maturation, (ce retard a été compensé pour le Ch 180), associés à des manifestations sub-convulsives spontanées ; les déterminations d'activité de transamination effectuées sur deux sujets avaient donné des résultats supérieurs à la normale.

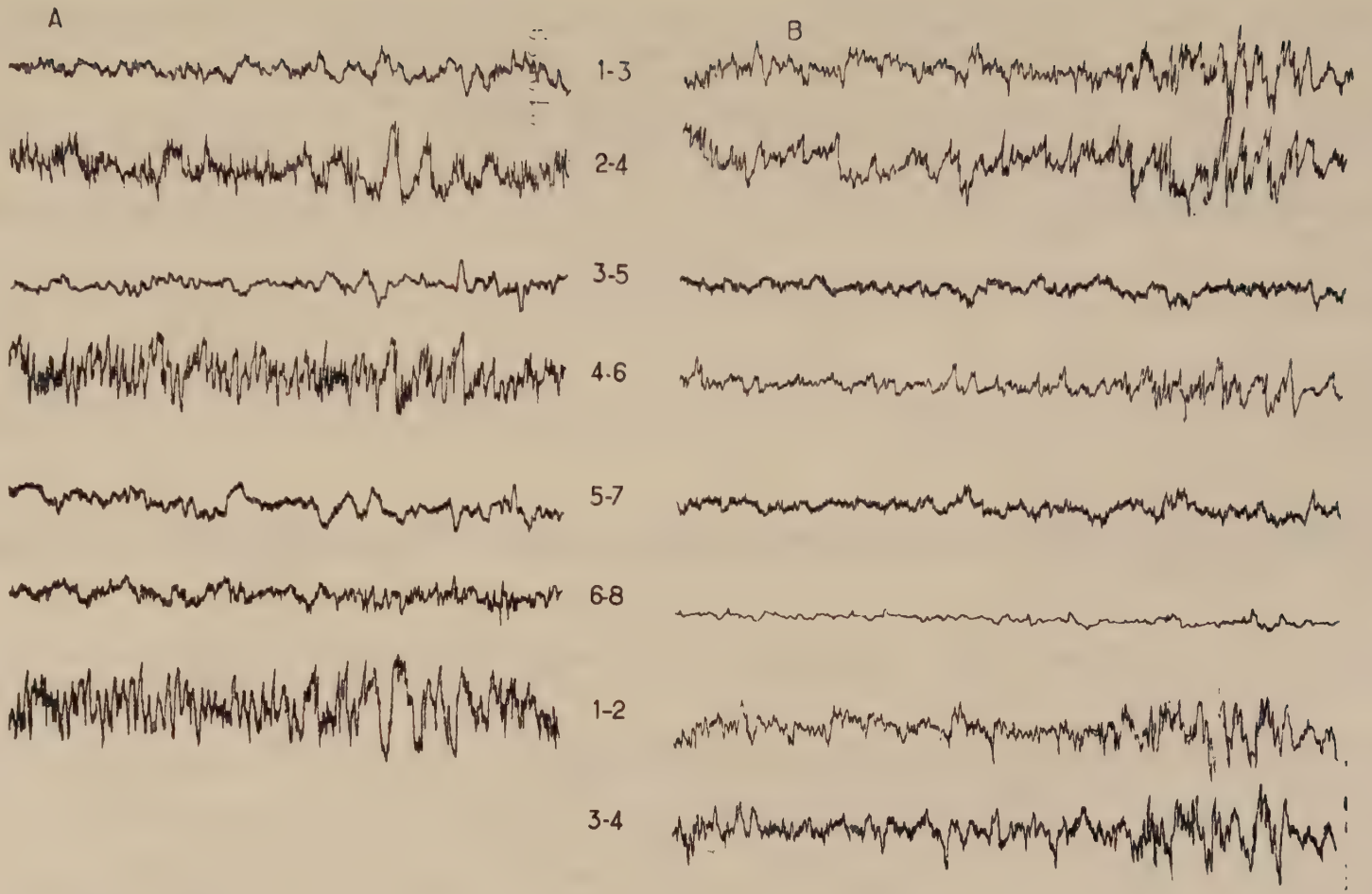
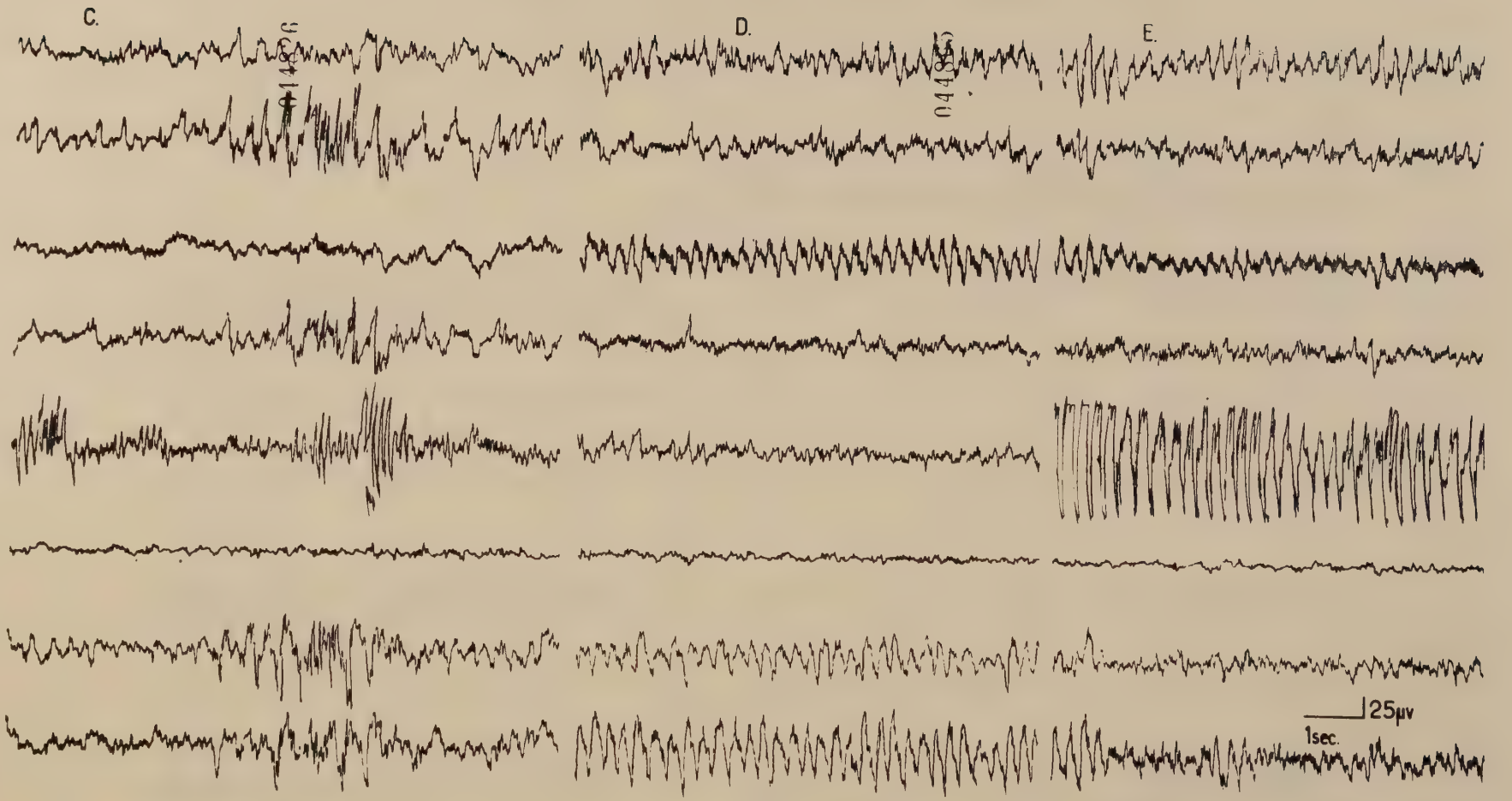


FIG. 71. — Ch 164
A — Enregistrement du 7e jour : anomalies paroxystiques spontanées.
B — Enregistrement du 8e jour : régression des anomalies.



Epreuve au Cardiazol (7,5 mg/kg) au 8e jour :
C — 3' après l'injection : polypointes rapides.
D — 16' après l'injection : trains d'ondes à 3-5 c/sec.
E — 18' après l'injection : pointes-ondes très amples sur la dérivation occipitale droite. +++

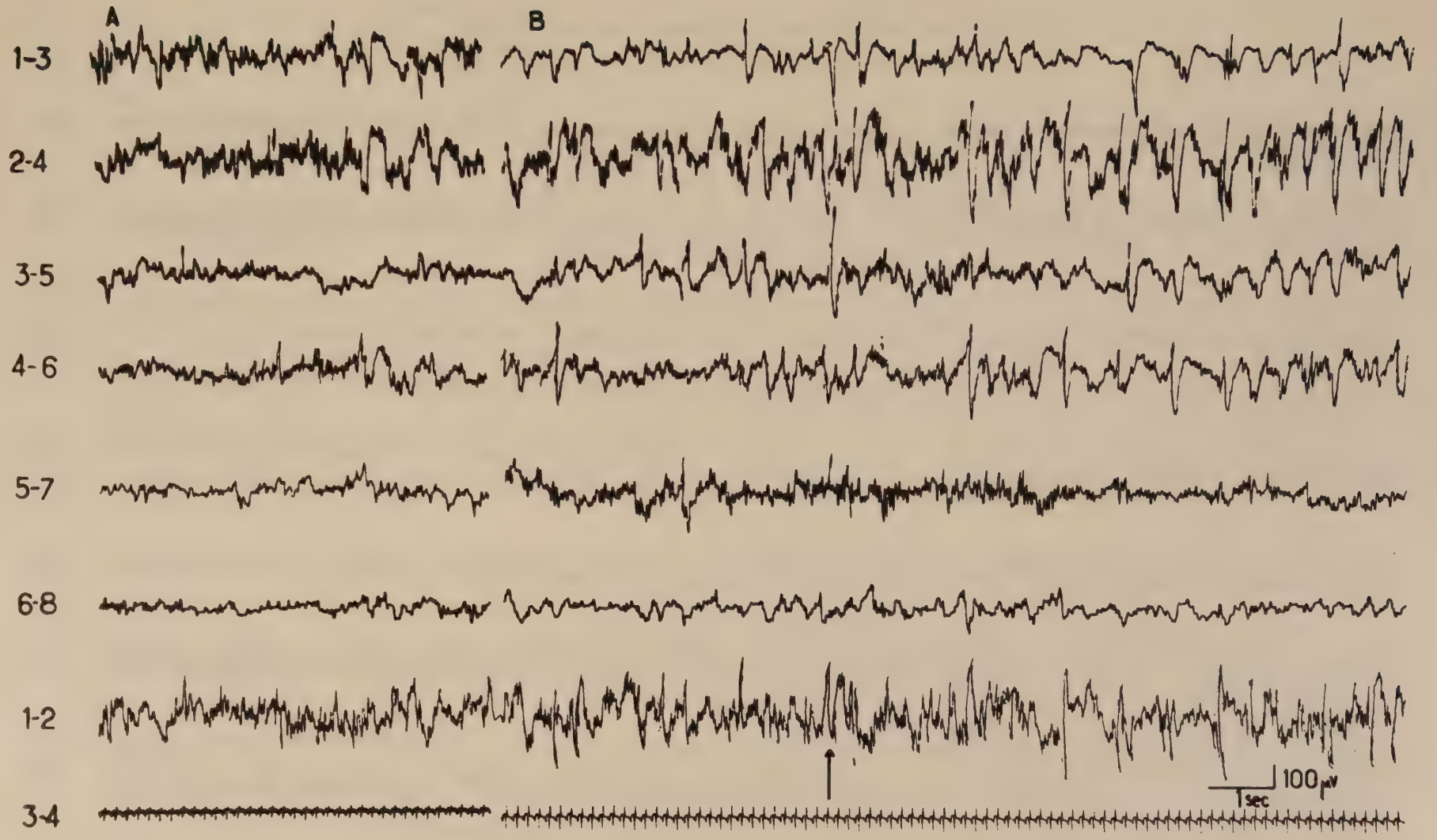


FIG. 72. — MAc 51 — enregistrement du 8e jour.
A — tracé spontané normal.
B — apparition de pointes et de pointes-ondes sous l'effet d'une stimulation lumineuse.

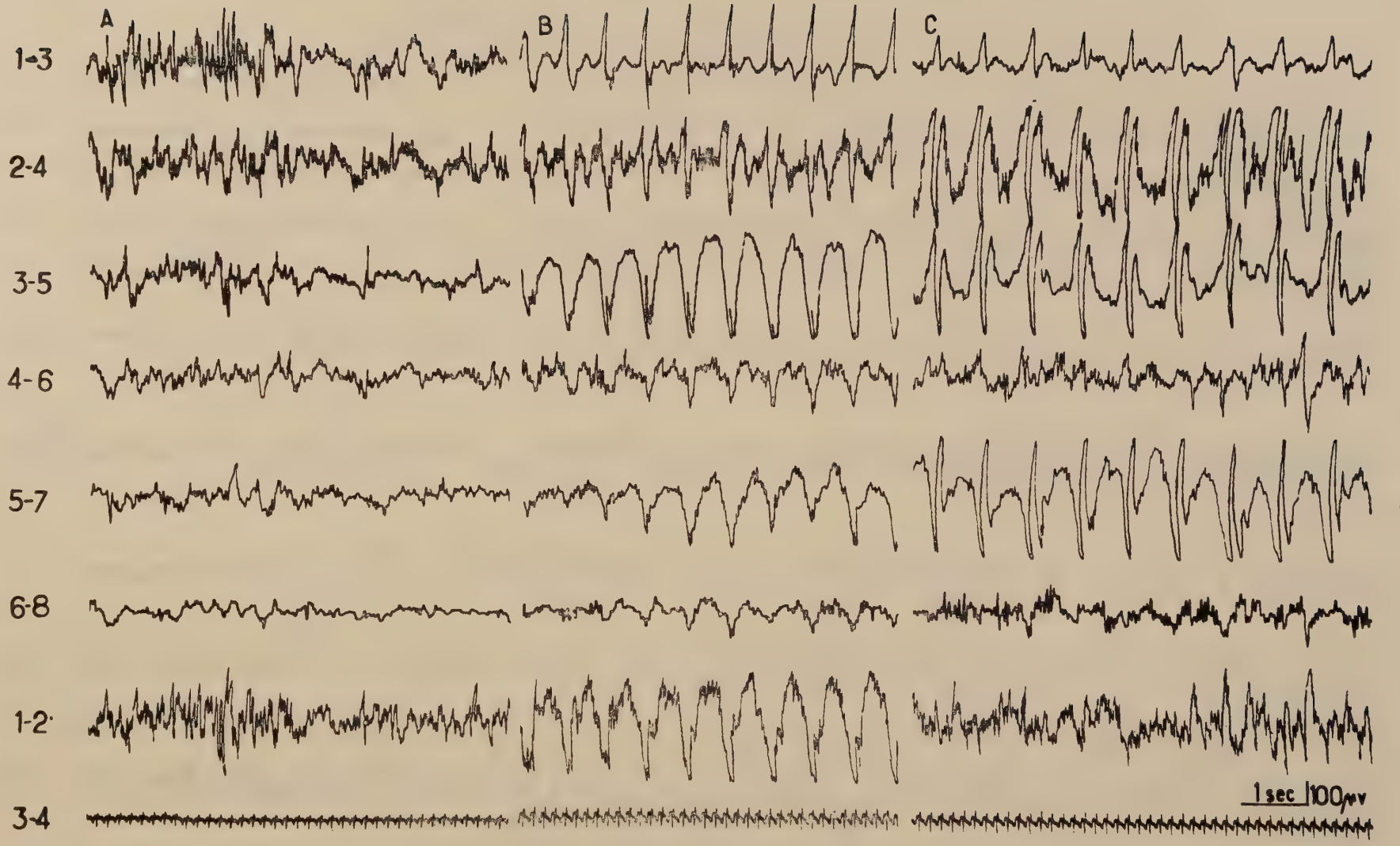


FIG. 73. — MAc 51 — épreuve au Cardiazol (10 mg/kg) au 8e jour.
A — avant l'injection.
B et C — 20' après l'injection : pointes , ondes lentes et pointes-ondes rythmiques. +++

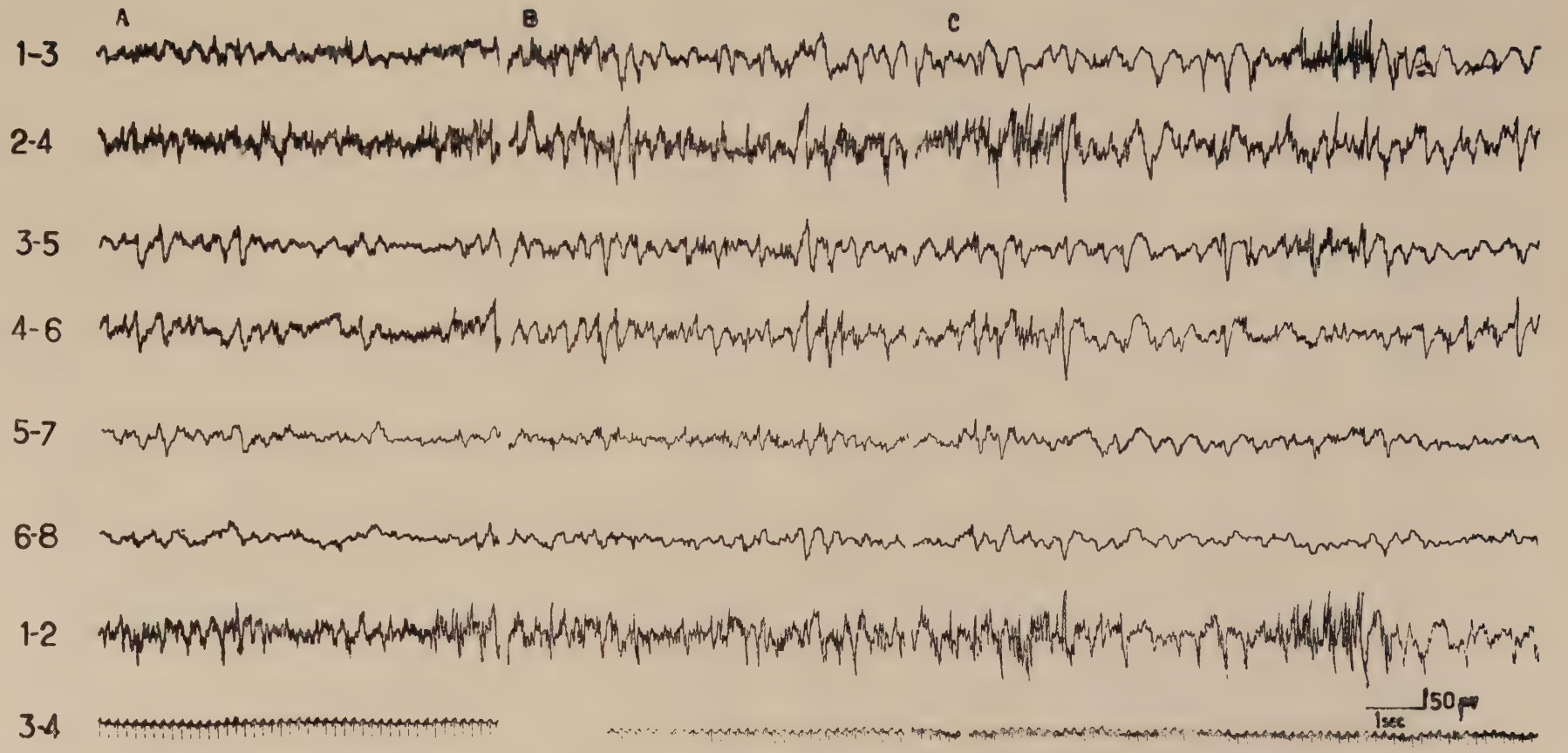


FIG. 74. — MAc 52 — enregistrement du 9e jour.
A — avant Cardiazol (7,5 mg/kg).
B — 13' après l'injection.
C — 30' après l'injection : bouffées d'activité à 3-4 c/sec. ++

CONCLUSION

En résumé, sur les 90 tracés recueillis après administration de Cardiazol, 35 correspondant à 46 % des 67 animaux choisis pour cette expérimentation ont témoigné d'une diminution anormale du seuil convulsivant ; cette diminution était particulièrement accusée chez 12 Lapereaux, soit 18 % du lot.

Ces proportions sont largement en faveur d'une différence significative entre les deux groupes expérimentaux témoin et « actinomyciné ». Dans la mesure où nous avons choisi, parmi la totalité du groupe des Lapereaux « actinomycinés », un lot suffisamment important, et à l'intérieur duquel les différents types d'anomalies sont représentés suivant des proportions voisines de leur répartition sur l'ensemble du groupe, la détermination du seuil convulsivant de nos animaux nous permet de conclure à une sensibilisation marquée, dont le traitement tératogène à l'actinomycine est responsable.

L'élément subjectif inhérent au principe de l'interprétation des tracés E.Co.G. sur lequel nous nous somme étendu par ailleurs, s'est trouvé minimisé du fait de la méthode d'analyse que nous avons utilisée : en effet, la lecture des tracés s'est effectuée en plusieurs fractions comptant indifféremment les enregistrements d'animaux témoins et « actinomycinés », et leur identification n'a été faite que postérieurement. Compte tenu de la cohérence de l'ensemble des résultats exposés concernant les Lapereaux témoins, l'on peut considérer que ceux qui ont trait aux Lapereaux « actinomycinés » sont empreints de la même exactitude.

Par conséquent, si l'on doit faire des réserves sur les chiffres totalisés plus haut, ces réserves tiennent essentiellement au nombre relativement restreint de Lapereaux que nous avons soumis à cette expérimentation (67 sur les 167 Lapereaux examinés sur le plan neurophysiologique) dans la mesure où il suppose un choix préalable. Nous pensons avoir supprimé au mieux cette cause d'erreur en sélectionnant nos sujets d'expérience dans chacun des différents groupes définis par les doses d'actinomycine administrées, tout en conservant, comme nous l'avons dit plus haut, un échantillonnage aussi complet que possible des troubles ontogénétiques que nous avons observés avant ces épreuves.

Le rappel succint du contexte neurophysiologique et biochimique, éventuellement morphologique, au cours de l'exposé de ces résultats nous a permis de constater le parallèlisme fréquent des anomalies multiples rencontrées chez quelques animaux.

Pour plus de facilité dans la discussion de ces résultats, nous renverrons au tableau récapitulatif XXIX (p. 165) dans lequel nous avons fait figurer les anomalies mises en évidence au cours des différentes expérimentations.

Si l'on considère les seules observations neurophysiologiques effectuées avant l'administration de pentétrazol, nous avons établi un rapprochement entre les résultats individuels de la présente expérimentation et les anomalies éventuelles présentées d'une part par les sujets eux-mêmes, et d'autre part avec celles que nous avions observées chez leurs frères.

Dans le cas où le tracé du sujet d'expérience comportait des grapho-éléments paroxystiques, nous avons tenu compte de l'aggravation de ces symptômes sous l'effet du Cardiazol. En fait, sur 22 Lapereaux appartenant à cette catégorie, seule une fraction a présenté des réactions convulsives supérieures à la normale ; au contraire, nous avons pu constater que l'administration de pentétrazol entraînait des modifications E.Co.G. sensiblement voisines, voire même identiques à celles des témoins chez 13 d'entre eux.

Secondairement, la confrontation de ces résultats avec les observations biochimiques tend à montrer certaines corrélations. Par exemple, les Lapereaux MAc 45 et Ch 162-2826-2 spontanément convulsifs et particulièrement sensibles au Cardiazol, ont, en outre, présenté des anomalies biochimiques, diminution des T.G.O. et T.G.P. cérébrales (MAc 45) et persistance d'une élimination pathologique de métabolites 5-hydroxylés du tryptophane.

Au contraire, les Lapereaux MAc 50-2859 et Ch 172-2883 dont les tracés étaient subconvulsifs et les transaminases cérébrales normales ou légèrement diminuées, présentaient un seuil cardiazolique sensiblement normal.

Il semble donc que les corrélations que nous avions suspectées entre les signes de pyridoxinose et l'altération paroxystique des E.Co.G. soient au moins pour une part confirmées par ces épreuves au Cardiazol ; nous avons en effet signalé (p. 122) l'influence du métabolisme de ce coenzyme dans les phénomènes convulsifs.

En outre, cette méthode d'investigation a présenté un intérêt particulier chaque fois qu'elle a été appliquée aux animaux normaux sur le plan E.Co.G., mais dont les frères avaient

manifesté des tendances paroxystiques spontanées. Suivant le cas, elle nous a permis de confirmer l'absence d'anomalie (Ch 179 et MAc 66-3067, Ch 76 et MAc 32-2615-1, Ch 134-2882-1...) ou bien de détecter une susceptibilité convulsive latente, témoin d'une atteinte sub-liminaire des mécanismes biologiques intéressés (Ch 177-2944, Ch 178-3067, MAc 48-2882-2...).

Un certain nombre d'animaux soumis à plusieurs épreuves successives ne se sont montrés anormalement sensibles qu'au cours d'épreuves isolées : par exemple, Ch 72-2677-1, Ch 170-2952, Ch 180-3053-2 ; dans chacun de ces cas un retard de maturation avait été décelé lors de l'examen des activités corticales spontanées ou évoquées. Il semble, par conséquent, que ces retards dans la maturation fonctionnelle soient à l'origine des périodes passagères d'accroissement de la susceptibilité convulsive, si l'on considère la coïncidence du retour de ces animaux à une sensibilité normale avec le temps de recouvrement de leur retard de développement.

Parallèlement aux observations que nous avons faites à propos des Lapereaux dont les frères étaient sub-convulsifs, nous avons constaté que, dans quelques cas, chez les animaux dont les caractères E.Co.G. étaient normaux mais dont les frères présentaient des retards de maturation fonctionnelle, les épreuves au Cardiazol ont révélé l'abaissement anormal de leur seuil de sensibilité : ce fut le cas du Ch 185-2951 chez qui l'élévation de l'activité T.G.O. cérébrale nous avait porté à conclure dans le sens d'un retard de maturation sans manifestation E.Co.G. ; le Lapereau Ch 83-2689-2 s'est prêté à la même constatation.

En conclusion, ces observations maintiennent la dualité des constatations que nous avons décrites jusqu'alors, en ce sens que la diminution du seuil de sensibilité au Cardiazol peut être consécutive à un retard dans le développement des systèmes enzymatiques, notamment dans la période du 5e au 10e jour, et dans ce cas, elle présente un caractère réversible ; elle peut être également consécutive à un état pathologique, et nous avons vu à cet égard le rôle que l'on pouvait attribuer à un trouble du métabolisme de la vitamine B6.

En l'occurence, cette dualité d'origine se manifeste par le même mode d'expression, il semble donc qu'il y ait en réalité une continuité dans la gradation des atteintes par l'actinomycine, aucun des deux phénomènes que nous avons référencés comme retard de maturation ou comme pyridoxinose ne constituant en soi un syndrome délimité par des signes parfaitement définis.

A l'issue de ce dernier compte rendu expérimental, cette notion nous apparaît comme essentielle, et nous verrons à la suite de la confrontation de l'ensemble des résultats ce que leur discussion sur un plan général peut emprunter à ce thème.

DISCUSSION - CONCLUSION

L'étude des effets tératogènes des molécules constitue de nos jours l'une des étapes les plus importantes dans la définition pharmacologique de l'action des médicaments. Ce problème dont la difficulté majeure réside dans la détermination d'un protocole opératoire s'est trouvé au premier rang des préoccupations des pharmacologues ; en France, en particulier, la découverte des effets du thalidomide a suscité un certain nombre de mises au point sur les principes de cette recherche, tandis que les travaux expérimentaux des embryologistes éveillaient un regain d'intérêt aux yeux des pharmacologues et des cliniciens et faisaient l'objet de revues systématiques. (Giroud (1955) — Warkany (1959) — Boissier et Lechat (1960) — Baker (1960) — Chassagne et Lechat (1962) — « Thérapie » (1963) — Brock et von Kreibig (1964 a et b) — Cahen (1964) — Fave (1964) — Lash (1964) — Mellin (1964) — Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot (1964 a et b)...)

Parmi les innombrables travaux traitant des propriétés tératogènes de molécules les plus diverses, tous se sont axés sur les incidences morphologiques macro et microscopiques des agents étudiés. Il nous a semblé important de vérifier la part d'aléas que laissait subsister ce type de recherche dans la mesure où elle était l'unique moyen de détection des anomalies induites par les agents médicamentaux absorbés pendant la gestation.

C'est pourquoi nous avons tenté un premier pas dans cette voie en mettant à profit les connaissances acquises sur les modalités du développement ontogénétique du Lapin, particulièrement en ce qui concerne son électro-ontogénèse corticale.

Le choix de l'actinomycine, dont le mode d'action est actuellement parfaitement connu, s'est avéré répondre, pour l'essentiel, aux nécessités de ce genre de recherche : relativement maniable, cet agent nous a permis d'obtenir, pour des doses appropriées, un pourcentage de malformations morphologiques suffisamment réduit pour que nos investigations en d'autres domaines soient réalisées sur un nombre statistiquement valable d'animaux morphologiquement normaux ; par ailleurs, en jouant sur les dates d'administration au cours de la gestation, nous avons pu orienter de façon satisfaisante l'action de l'actinomycine vers une atteinte préférencielle des structures nerveuses centrales.

En conséquence de cette limitation de nos expériences à une seule espèce, le Lapin, traitée par un seul agent, l'actinomycine, l'extension de nos conclusions au problème général de la tératogénèse demanderait naturellement une application de nos principes expérimentaux à un ensemble plurispécifique soumis à l'administration d'autres molécules tératogènes.

Nous avons conduit nos investigations, au cours de la période post-natale, simultanément sur quatre plans : tout d'abord l'examen macroscopique des Lapereaux nouveaux-nés visait à sélectionner les atteintes morphologiques ; une étude détaillée des activités corticales spontanées, complétée par l'analyse des paramètres des activités évoquées somesthésique et visuelle a constitué l'élément essentiel de ce travail ; nous l'avons confronté en second lieu aux données biochimiques et pharmacologiques partielles que nous ont fourni la détermination des métabolites indoliques urinaires et la mesure des activités de transamination plasmatiques et cérébrales d'une part, l'évaluation du seuil E.Co.G. convulsivant du pentétrazol d'autre part.

Compte tenu de la diversité des disciplines auxquelles nous avons emprunté nos méthodes d'étude, nous avons dû sacrifier à la précision pour conserver le caractère général de notre entreprise. En effet, pour approcher au mieux l'exactitude en chaque domaine, chacun de nos chapitres aurait pu constituer en soi la totalité d'un ouvrage comme celui-ci, quand bien même nous aurions limité leur application au SNC. Par conséquent, un certain nombre de données dont nous ne minimiserons pas l'importance, font défaut à ce travail.

En particulier, les seules observations macroscopiques qui tiennent lieu de discrimination des caractères morphologiques de nos animaux auraient trouvé un complément appréciable dans le domaine de l'histologie ; nous verrons à ce propos qu'une partie relativement importante de nos animaux a été consacrée à la détermination d'activités enzymatiques cérébra-

les, ce qui diminuait d'autant la validité d'une éventuelle analyse histologique systématique des cerveaux. Cependant, à titre de prospection, des coupes histologiques ont été pratiquées sur 11 de nos Lapereaux « actinomycinés », leur examen microscopique n'a révélé aucune anomalie par comparaison aux coupes d'animaux témoins du même âge. Ce nombre restreint n'exclut pas la critique, mais l'angle clinique sous lequel nous avons examiné ce problème nous a paru autoriser à conclure nos recherches en les appuyant sur les seuls examens praticables en pédiatrie, dans l'exploration du système nerveux central.

Dans ce même cadre des examens morphologiques, le dénombrement exact des avortements ou des résorptions fœtales après laparotomie fait également défaut ; son intérêt nous a semblé devoir céder devant un impératif, à savoir la nécessité absolue de ne pratiquer aucune manœuvre susceptible d'apporter une perturbation étrangère au traitement tératogène proprement dit.

Au même titre, nous rappellerons les critiques qu'il convient de porter sur les techniques neurophysiologiques que nous avons adoptées. Si l'étude des activités corticales constitue l'essentiel des méthodes appliquées en clinique neurologique, les travaux expérimentaux de ces dernières années, notamment ceux qui concernent l'ontogénèse des mammifères, ont largement dépassé ce stade grâce à l'emploi abondant de techniques d'enregistrement et de stimulation au niveau des structures centrales. Au moment où nous avons entrepris ce travail, ce type de recherches appliqué à la définition des étapes de l'ontogénèse du Lapin normal commençait à fournir les premiers éléments de résultats, et les données de cet ordre continuent de s'accumuler au sein même de ce Laboratoire. Par conséquent, nous nous sommes adressé, en notre temps, aux caractères neurophysiologiques pour lesquels un nombre suffisamment important d'expérimentations permettait une comparaison fructueuse entre les degrés de maturité respectifs des Lapereaux témoins et « actinomycinés ». Cependant, grâce à la mise au point d'une technique d'implantation d'électrodes à demeure, nous avons pu apporter quelque amélioration dans les procédés d'évaluation de la maturation E.Co.G., notre technique « chronique » nous permettant de poursuivre nos observations sur un même animal tout au long de sa période « critique » de développement.

Par ailleurs, nous devons revenir sur les imperfections inhérentes à l'interprétation des enregistrements graphiques de ces activités. La multiplicité des paramètres qui président à la différenciation des activités corticales (amplitude, fréquence, réactivité, niveau de vigilance, et dans notre cas particulier, âge du sujet), rendent singulièrement délicat le traitement automatique de l'information. Ici encore, l'acquisition progressive de techniques et de matériel constamment améliorés, notamment en ce qui concerne l'analyse des paramètres des réponses évoquées, nous aurait permis depuis quelques mois d'apporter une meilleure précision à la fois dans la définition des variations ontogénétiques normales et dans la comparaison de celles-ci avec les mesures effectuées chez les Lapereaux « actinomycinés ».

Avant d'en arriver aux commentaires sur nos techniques d'exploration biochimique, nous soulignerons le caractère incomplet de nos investigations dans ce domaine. Nous avons été en grande partie influencé dans notre choix relatif au métabolisme des indoles, par l'observation d'une anomalie pigmentaire qui nous a semblé relever d'un trouble de leur dégradation ; il est évident que nous n'avons pensé en aucun cas à une limitation de l'intervention de l'actinomycine dans cette seule chaîne, son pouvoir inhibiteur sur la synthèse protéique en général pouvant entraîner à priori une déficience enzymatique intéressant tout autre métabolisme.

Ce principe étant posé, nous nous sommes efforcé, par des méthodes simples, d'isoler l'élément causal le plus probable d'une part importante des anomalies E.Co.G. que nous avons notées. Parmi les multiples enzymes dont le groupement prosthétique se trouve être le pyridoxal-phosphate, quelques-uns occupent des positions clefs dans la dégradation du tryptophane, trois d'entre eux appartiennent notamment au groupe des transaminases ; c'est la raison pour laquelle nous avons complété cette exploration par la mesure de l'activité des transaminases aspartique-et alanine-α cétoglutarique dans le plasma et dans le tissu cérébral. En effet, nous avons pu constater l'existence d'un certain nombre de points communs entre les anomalies que nous avons pu mettre en évidence et le tableau symptomatologique classique de la pyridoxinose ; ces investigations devaient par conséquent nous permettre au moins d'approcher la confirmation biochimique de ce syndrôme.

Dans cette entreprise, les limites techniques de nos possibilités et l'obligation où nous étions de conserver au mieux le caractère spontané de l'évolution de nos Lapereaux, nous ont

empêché, d'une part, de pratiquer l'ensemble des dosages spécialisés adaptés à la détermination quantitative des teneurs cérébrales en dérivés de la pyridoxine, en précurseurs de la sérotonine et en sérotonine proprement dite, ainsi que d'administrer la preuve de l'intervention de la vitamine B6 dans les phénomènes pathologiques que nous étudiions, par l'emploi de surcharges et d'éléments traceurs.

Néanmoins, au même titre qu'en clinique courante, les chromatographies d'indoles urinaires et les déterminations des transaminases nous ont permis d'infirmer ou de confirmer, suivant les cas, l'origine au moins partielle des troubles fonctionnels que nous avions attribués en première analyse à un dysfonctionnement du métabolisme de la vitamine B6.

Par ailleurs, les épreuves neuropharmacologiques consistant en la détermination du seuil d'action E.Co.G. convulsivante du pentaméthylènetétrazol, que nous avons pratiquées sur une fraction de notre lot d'expérimentation, sont venues s'ajouter avec une bonne concordance aux résultats que nous avions obtenus avec les méthodes précédentes. Bien que dans ces épreuves l'interprétation des enregistrements E.Co.G. soit redevable des mêmes critiques que la partie purement neurophysiologique, en ce qui concerne l'élément subjectif dont elle est entachée, nous avons vu dans quelle mesure nous pouvions les considérer comme satisfaisantes, compte tenu de leur bonne signification chez les animaux témoins.

L'application des diverses techniques que nous venons de commenter, aux Lapereaux témoins a présenté un double intérêt en ce qu'elle apportait tout d'abord un certain nombre de données nouvelles sur la physiologie de l'ontogénèse de ces animaux, d'autre part, en ce que l'intégration de ces données aux résultats des travaux antérieurs nous permettait d'apprécier la validité de notre expérimentation.

Le long développement que nous avons donné en début de ce travail à l'étude de l'ensemble des connaissances accumulées ces dernières années sur l'ontogénèse du Lapin a constitué l'élément de référence de nos investigations.

Ce lien a été particulièrement étroit en ce qui concerne les éléments neurophysiologiques. La somme des données publiées par Laget et ses collaborateurs en cette matière représente, en effet, pour une large part, le support de nos propres résultats acquis par la méthode d'enregistrement E.Co.G. « chronique ». Par cette méthode, nous avons retrouvé l'ensemble des caractéristiques bioélectriques corticales qui définissent l'ontgénèse du Lapin telle qu'elle a été décrite par ces auteurs.

Par ailleurs, nous avons pu voir que l'analyse chromatographique des dérivés indoliques urinaires reflétait, dans une très large mesure, l'évolution générale des processus biochimiques particuliers aux jeunes animaux : l'excrétion urinaire, dans des proportions notables des produits de dégradation du tryptophane, apparaissant dans l'ordre successif de leur biosynthèse entre les premiers et le 15e jour, répond en effet de la mise en jeu progressive des systèmes enzymatiques responsables de cette dégradation ; ces enzymes suivraient par conséquent le mode de maturation décrit auparavant pour la plupart des activités étudiées dans ce cadre.

De la même façon, au cours de nos déterminations des activités de transamination cérébrale, la maturation des T.G.O. et des T.G.P. s'est avérée correspondre à l'évolution simultanée du métabolisme de l'acide glutamique et des mécanismes oxydatifs au sein de ce tissu, telle qu'elle a été décrite par différents auteurs.

En dépit de son caractère partiel, notre expérimentation biochimique représente, en définitive, un élément témoin de la maturité du Lapin à différents âges, et ceci en fonction du degré d'activité des processus biologiques qu'elle explore.

Enfin, nous avons constaté que le seuil «cardiazolique» évalué sous son aspect E.Co.G. suivait, selon toute probalité, les variations qui lui sont assignées par la conjonction de l'évolution des métabolismes énergétiques d'une part, et de l'enrichissement des connexions synaptiques centro-corticales d'autre part. Ainsi, à la prédominance de la glycolyse anaérobie durant la période néonatale précoce, correspond une sensibilité maxima ; le dépassement progressif de ce catabolisme par la voie oxydative du cycle de Krebs entre le 5e et le 9e jour est contemporain d'une très nette diminution de la sensibilité ; dans ce dernier temps, la prolifération des fibres corticipètes semble responsable de l'établissement, aux environs du 15e jours, du seuil « cardiazolique » adulte.

Ce dernier caractère évolutif présentait donc lui aussi l'intérêt de jalonner le décours du développement du jeune Lapin de périodes où le seuil de sensibilité est caractéristique de son âge.

Au regard des observations que nous avons pu faire sur les Lapereaux traités, chacune de ces voies d'investigation possède un lien commun ; ainsi que nous l'avons signalé précédemment, la pyridoxine joue un rôle de co-enzyme dans la plupart des réactions biochimiques que nous avons étudiées, et la participation des carences en vitamine B6 dans la pathologie convulsive que nous ont permis de déceler les examens neurophysiologiques et neuropharmacologiques nous a semblé justifier ces rapprochements.

La conjonction de l'ensemble de ces résultats permet donc de dégager pour chaque période du développement néonatal du jeune Lapin, un tableau relativement général de son degré de maturité biologique. Ce tableau répond, en outre, aux exigences de notre expérimentation tératogène dans la mesure où il apporte un ensemble cohérent de données de référence sur des points particuliers pris dans des domaines aussi divers que la neurophysiologie, la biochimie et la pharmacologie.

Un premier élément de conclusion se dégage de ce travail en ce qui concerne son retentissement sur le problème général de la tératogénèse.

Si l'on considère tout d'abord les seuls chiffres relatifs à l'examen morphologique, l'on peut voir que, conformément aux conclusions des pharmacologues, en particulier Boissier (1963), il n'existe pas de relation proportionnelle entre la dose et l'effet tératogène.

Sur ce point la comparaison des pourcentages de portées frappées d'anomalies pour les doses uniques (30 à 80 µg/kg au 9e jour) et pour les doses multiples (20 à 40 µg/kg/j du 7e au 11e jour, soit 100 à 200 µg/kg en tout) montre que dans l'ensemble les effets résultant des deux modes de traitement sont sensiblement comparables dans leur caractère supra-liminaire.

Au contraire, la confrontation de nos résultats avec les travaux de Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot (1960) a montré que l'emploi des doses plus faibles (150 à 200 µg/j) est susceptible d'entraîner une plus forte proportion d'anomalies (55 % pour 1,6 à 6 % de Lapereaux malformés dans notre expérimentation).

Cette réduction de la fréquence des atteintes morphologiques, selon le but de notre travail, nous a permis d'étudier par des méthodes élaborées, les conséquences beaucoup moins évidentes du traitement tératogène sur un grand nombre de sujets apparemment normaux. En particulier, grâce à l'examen neurophysiologique, nous avons pu isoler 60 à 72 % d'anomalies dans les activités bioélectriques corticales, en l'absence de toute difformité. Mieux encore, les examens biochimiques et pharmacologiques pratiqués sur quelques individus exempts d'anomalies tant morphologiques que neurophysiologiques ont mis en évidence l'existence de troubles métaboliques ou d'abaissement du seuil « cardiazolique », 12 Lapereaux sont dans ce cas : (Ch 178-3067 (B), Ch 83-2689-2 (D), MAc 48-2882-2 (D), MAc 44-3018 (D), MAc 51 et 52-3070-2 (F), Ch 167 et 170-2952 (G), Ch 94-4511-2 (H), MAc 18 et Ch 39-2689-1 (H), MAc 67-3053-2 (H)) alors que seuls 5 autres Lapereaux (Ch 65-2826-1 (C), Ch 134-2882-1 (D), Ch 169-2952 (G), Ch 71 et 75-4510-2 (H)) soumis à ces examens complémentaires se sont avérés exemps de toute anomalie.

En conséquence, ces chiffres apportent d'emblée l'affirmation d'un risque tératogène persistant malgré l'absence de toute anomalie morphologique ou comportementale, qu'il s'agisse de monstruosités ou de simples retards staturo-pondéraux, réversibles ou non.

Tout en demeurant dans le cadre de cette expérimentation limitée au Lapin traité par l'actinomycine, donc par un agent tératogène particulièrement efficace, nous pouvons d'ores et déjà préconiser la plus grande prudence en matière de pharmacologie : à la suite de notre travail consacré à l'étude de quelques 350 Lapereaux soumis au traitement tératogène, parmi lesquels 15 seulement, répartis dans 8 portées sur 57 (14 %), ont présenté des malformations macroscopiques diverses, contre 115 atteints de troubles E.Co.G., l'on peut très bien admettre qu'un essai tératogène pratiqué sur une seule espèce et sur un nombre plus restreint de portées soumises au seul examen morphologique dans les conditions où nous l'avons pratiqué soit à même de permettre une conclusion erronnée quant à l'inocuité d'une substance.

Cependant, mesurant toute la gravité de telles affirmations, nous maintiendrons à ce sujet toutes les réserves que nous avons faites quant aux nécessités d'une expérimentation sur

plusieurs espèces animales soumises au traitement d'agents divers, et examinées systématiquement sous l'angle histologique.

D'autre part, il nous apparaît tout à fait opportun de rappeler ici que toute extrapolation de l'animal à l'homme est très aléatoire. Si nous sommes autorisé dans cette extrapolation à quelques rapprochements, ceux-ci se sont toujours volontairement présentés comme de pures hypothèses, en aparte de ce travail ; nous savons, par ailleurs, combien il serait hâtif de conclure que la définition d'une moyenne biologique puisse être un critère absolu de normalité. Nous avons simplement voulu exposer, compte tenu des incertitudes que laissent subsister nos moyens d'investigations, un certain nombre de résultats qui s'écartent du schéma général tracé pour les différents stades du développement des Lapereaux témoins, sans toutefois prétendre, par une extension abusive de nos conclusions, que ces écarts de la moyenne représentent systématiquement un élément aux conséquences pathologiques.

Pour revenir à des considérations plus expérimentales, nous signalerons, d'autre part, l'intérêt que présente dans une telle étude le choix de doses et de dates d'administration variées au cours de la période embryonnaire, dans la mesure où ces variations sont susceptibles d'orienter avec une relative sélectivité, les atteintes préférentielles de certains organes. Au cours de ce travail, nous avons vu que la limitation de notre intervention à une seule administration d'actinomycine au 9e jour de la gestation, au lieu d'un traitement continu pendant 5 jours nous a permis de réduire notablement, comme nous nous le proposions, les cas d'anomalies morphologiques — (1,6 % au lieu de 6 %) — tout en conservant un nombre sensiblement comparable d'anomalies E.Co.G. (61 % au lieu de 72 %).

L'on voit ici ce que pourraient apporter des études plus précises quant à la délimitation du moment de l'action tératogène, dans le domaine de l'embryologie d'une part, dans celui de la physiologie d'autre part : la localisation de l'organe ou du centre fonctionnel cible, grâce à l'utilisation d'agents marqués, par exemple, pouvant être à l'origine de recherches très variés sur l'ensemble fonctionnel auquel il appartient.

Au cours des exposés successifs des résultats obtenus chez les animaux « actinomycinés » dans chacun des domaines explorés, nous avons été amené à rapprocher un certain nombre de ces données afin d'en dégager les notions d'ensemble qui nous paraissaient exister ; nous allons maintenant essayer d'en tirer une conclusion plus générale.

Afin d'en rendre compte, nous avons rassemblé nos résultats en un tableau récapitulatif (Tableau XXIX).

Etant donnée la plus grande extension que nous avons apportée à l'exploration neurophysiologique, c'est autour de celle-ci que nous avons groupé les résultats des autres expérimentations. Par conséquent, ce tableau ne comprend strictement que les observations relatives aux Lapereaux « actinomycinés » pour lesquels nous avons recueilli au moins un tracé E.Co.G., à l'exclusion des observations morphologiques ou biochimiques effectuées sur quelques sujets dont les activités corticales n'ont pas été étudiées.

Schématiquement, l'action tératogène de l'actinomycine telle que nous l'avons étudiée, s'est concrétisée par l'apparition de deux types d'effets : les uns témoins d'une atteinte de la chronologie de l'ontogénèse, ont revêtu la forme de retards de maturation, les autres, consistant en l'apparition de véritables traits pathologiques.

Les retards de maturation se sont manifestés en différents domaines : sur le plan morphologique, certains Lapereaux ont présenté des caractéristiques pondérales inférieures à la moyenne, chez d'autres, l'ossification de la voûte crânienne laissait persister de larges fontanelles jusqu'à un âge avancé, dans quelques portées, l'ouverture des fentes palpébrales a eu lieu au-delà du 11e jour.

Les retards de maturation des activités bioélectriques se sont portés sur l'amplification progressive du tracé ou sur l'apparition ou la synchronisation d'éléments E.Co.G. comme les fuseaux de sommeil, les rythmes d'éveil d'origine hippocampique sur leurs projections corticales occipitales, ou bien encore, au niveau des activités évoquées, sur le raccourcissement de la latence ou sur l'apparition de la phase initiale positive.

Sur le plan biochimique, ces retards ont consisté en l'élimination urinaire des métabolites intermédiaires de la dégradation du tryptophane, en quantités accrues et sur des périodes prolongées ; sur ce point, nous pensons pouvoir proposer, selon toute vraisemblance, l'hypothèse

d'un déficit, parfois compensé, en enzymes responsables de leur catabolisme ; d'autre part, en ce qui concerne les transaminases cérébrales, il nous a semblé que l'actinomycine exerçait son pouvoir inhibiteur sur la synthèse d'une protéine complexante de l'activité de transamination et entraînait généralement une augmentation de cette activité.

Enfin, le caractère parfois transitoire de l'élévation de la sensibilité convulsive au pentétrazol nous donne à penser qu'un retard dans la maturation des processus d'oxydation du glucose puisse être à l'origine d'une part des anomalies que nous avons détectées dans ce cadre.

Par opposition, nous avons défini par le terme général de pathologique, les observations qui nous ont conduit à la détection, soit de malformations morphologiques : hydrocéphalies, malformations tibiotarsiennes..., soit, sur le plan neurophysiologique, de grapho-éléments paroxystiques.

Dans le cas général, les manifestations convulsives ou sub-convulsives que nous avons relevées sur leur E.Co.G. coïncidaient, chez ces animaux, avec un accroissement de l'excrétion

TABLEAU XXIX

Récapitulation des résultats expérimentaux obtenus en neurophysiologie confrontés avec ceux des examens morphologiques, biochimiques et neuropharmacologiques, chez les Lapereaux « actinomycinés »

E.Co.G.	M	Indoles	TGP	TGO	Cardiazol
N 52 animaux	43 N 7 R 2 A	5 N 1 > —> N 1 > —> N + indic. 1 > 1 > + IAA + indic.	3 N 1 < 1 ⩾	 1 < 1 > 3 >>	9 N 2 ⩾ 1 > —> N 4 > 5 >>
R —> N 9 animaux	4 N 4 R 1 A + R	3 > —> N			2 N 1 > —> N
R 61 animaux dont 4 †	36 N 19 R 3 A 3 A + R	8 N 8 > —> N 1 > —> N + indic. 6 > 3 > + IAA + indic.	4 N 1 ⩽ 6 <	1 N 2 ⩽ 2 < 1 << 3 > 2 >>	13 N 1 ⩾ 1 > 2 >>
ε 26 animaux	23 N 2 R 1 A	4 > 1 > + IAA	3 N 2 < 1 << 2 >	1 N 4 < 2 << 1 >	7 N 1 ⩾ 3 > 4 >>
ε + R R —> N 2 animaux	2 N		1 >	1 >	1 ⩾ 1 >
ε + R 16 animaux	8 N 6 R 2 A	1 N 1 > 1 > + IAA 2 > + IAA + indic.	3 N 3 < 1 ⩾	5 < 2 >>	4 N 1 ⩾ 1 >>

E Co G : électrocorticogramme
M : morphologie
TGO et TGP : transaminases cérébrales glutamique-oxalacétique et pyruvique
Cardiazol : seuil « cardiazolique »
IAA : acide 3 indolylacétique
indic. : indican
† : mort cérébrale
N : normal
A : anormal
R : retard de maturation
R —> N : retard compensé.
ε : E Co G paroxystique
⩾ : supra-normal
>> : supérieur ou très supérieur à la normale
⩽ : sub-normal
<< : inférieur ou très inférieur à la normale.

des métabolites urinaires, associé à une diminution des activités cérébrales T.G.O. et T.G.P., et à un abaissement du seuil « cardiazolique » ; nous avons eu l'occasion de rappeler les analogies que présentait ce tableau d'ensemble avec le syndrôme de carence en pyridoxine.

En réalité, l'étude détaillée des cas individuels nous a montré l'interpénétration de ces deux types d'effets et toutes les gradations qui pouvaient exister entre les Lapereaux normaux sur l'ensemble des points envisagés et les Lapereaux cumulant simultanément les anomalies les plus graves.

Tout d'abord, nous avons vu qu'un certain nombre de nos animaux, tant sur le plan E.Co.G. que biochimique, parfois même neuropharmacologique, ont compensé le retard que nous avions détecté primitivement. Ces retours à la normale d'un certain nombre de constantes, généralement observés à la fin de la période « critique » du développement, c'est-à-dire vers le 14-15^{e} jour, indiquent un rétablissement des phénomènes biologiques progressivement libérés de l'éventuelle action frénatrice de l'actinomycine qui s'était exercée, aux stades précoces de l'ontogénèse, sur la synthèse de protéines indispensables à la maturation fonctionnelle (du système nerveux central, par exemple).

L'observation du caractère parfois transitoire des retards de maturation E.Co.G sur une fraction de nos animaux dont les tracés sont apparus appauvris pendant la totalité ou une partie de la période d'observation que nous avons respectée, justifie le terme sous lequel nous avons regroupé ces anomalies, en ce sens que nous pouvons considérer, à priori, que le recouvrement de ce retard restait susceptible de s'opérer postérieurement à la date normale de venue à maturité des signes E.Co.G. Nous avons eu l'occasion, en effet, de vérifier par exemple que les chromatogrammes urinaires de quelques sujets n'avaient présenté un profil normal qu'aux environs du 25^{e} jour.

Dans les cas les plus bénins, nous avons donc constaté une régression de divers signes anormaux, cependant, cette compensation n'a été le plus souvent que partielle, et d'autre part, les retards en divers points ont été fréquemment associés à des éléments symptomatologiques pathologiques, notamment en ce qui concerne l'apparition de grapho-éléments paroxystiques (voir tableau XXIX).

Par conséquent, nous pouvons conclure que l'une ou l'autre des tendances a pu se trouver isolée dans quelques cas, mais qu'elle a présenté un caractère dominant dans les observations les plus nombreuses.

Les anomalies concrétisées par le caractère convulsif spontané ou par la grande sensibilité aux épreuves au Cardiazol, souvent étayées par une perturbation de la chaîne du métabolisme des indoles, et une diminution des T.G.O. cérébrales correspondent vraisemblablement à une hypovitaminose B6 ; toutefois, cette hypovitaminose n'est probablement pas la conséquence d'une carence vitaminique pure, mais résulterait plutôt d'un déficit enzymatique au niveau du métabolisme de la pyridoxine, et rejoindrait par là même le phénomène général d'inhibition de la synthèse protéique dont l'actinomycine est responsable.

En conclusion, le point d'interrogation qui a suscité ce travail trouve une réponse affirmative dans la réalité d'un certain nombre d'atteintes discrètes provoquées par l'adminsitration de doses infra-tératogènes d'actinomycine.

Cette démonstration qui devait initialement se dérouler dans le domaine de la neurophysiologie nous a entraîné tout d'abord à élaborer une technique d'enregistrement « chronique » susceptible de mettre en évidence la pérennité éventuelle des troubles électrocorticographiques signalés par des examens isolés ; l'utilité de cette technique s'est vue confirmée par son application à quelques sujets dont les troubles fonctionnels ont progressivement régressé.

Devant les hypothèses que soulevèrent l'apparition de signes bio-électriques corticaux pathologiques, nous avons ensuite été amené à compléter cette expérimentation par des investigations biochimiques puis neuropharmacologiques.

Cet élargissement du sujet apporte non seulement de nouveaux éléments à nos connaissances de l'ontogénèse du Lapin, relatifs à l'évolution des transaminases cérébrales, du métabolisme des indoles et du seuil « cardiazolique », puisque nous avons dû l'appliquer à un lot statistiquement valable d'animaux témoins, mais constitué, en outre, un ensemble de résultats dont la concordance est le reflet, au moins partiel, d'une atteinte générale consécutive au traitement par l'actinomycine.

Nous avons l'espoir que le travail que nous avons entrepris dans une domaine dont l'importance n'échappe à personne suscitera l'intérêt sous un double aspect.

Nous avons montré qu'un ensemble de valeurs physiologiques déterminées au cours de l'ontogénèse, dans les domaines les plus divers, permettait, grâce au témoignage qu'il apporte quant à la maturité des systèmes physiologiques correspondants, aux différents âges, de vérifier, dans le cadre d'une expérimentation tératogène, l'existence de troubles plus ou moins accusés dans le développement de certains de ces processus.

En outre, le choix des investigations dans les différentes disciplines, physiologique, biochimique, pharmacologique, peut contribuer, dans la mesure de leur spécialisation, à circonscrire les éléments pathologiques responsables des trouble engendrés par le traitement tératogène.

Le second point qui nous paraît se dégager de notre exposé est relatif à la finalité que l'on peut entrevoir de l'application de la tératogénèse à la pénétration de certains mécanismes neuropathologiques chez l'Homme.

Dans notre cas, l'actinomycine D s'est montrée active sur la neurogénèse en créant un certain nombre d'anomalies bioélectriques corticales qu'il nous a été donné de relier à un trouble métabolique. Toute une méthodologie de ce type d'expérimentation reste encore à créer, en tenant compte en particulier de la variabilité individuelle de la latence de l'implantation de l'œuf fécondé, ce qui permettrait d'intervenir à un stade bien défini de l'embryogénèse ; mais on peut voir dès à présent que le choix des agents et du mode d'administration est à même d'en orienter l'action, au point que l'on puisse souhaiter parvenir à une précision telle que la fiction du « scapel pharmacologique » devienne réalité.

EFFECTS OF ACTINOMYCIN D ON NERVOUS DEVELOPMENT IN YOUNG RABBITS : NEUROPHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND NEUROPHARMACOLOGICAL DATA.

We tried to determine a mode of administration of actinomycin D as to obtain as few as possible minor macroscopic malformations with that teratogenic agent. Intact animals on the morphological point of view, were trained to systemic neurophysiological examinations ; those examinations were further completed by biochemical and neuropharmacological data for a moiety of the animals.

This work was performed upon 600 young normal and « actinomycinized » rabbits.

A review of litterature about rabbit ontogenesis gave us a reference for some of our experiences, particularly for electro-cortico-graphy.

On that point, the utilisation of classical « acute » methods for recordings, allowed us to detect maturational retardation of cortical activities. Those retardations induced us to elaborate a « chronical » method which consisted in implantation of permanent wires, in order to evaluate the duration of the maturational abnormalities during ageing. That method was particularly interesting in its applications to our study : we were allowed to observe the involution of retardation on approximately 7% of our subjects.

Spontaneous and evoked cortical activities (E.Co.G., visual and somesthetic responses) recorded on 167 new-born rabbits submitted to the teratogenic assay, gave us some 300 results ; their interpretation as compared to controls showed 61 to 72% neurophysiological abnormalities versus 1,6 to 6% morphological abnormalities.

That first part of our work demonstrated that functionnal disturbances could appear thought morphological could not be visualised.

On the other hand, when reducing actinomycin administration from 5 injections (7th to 11th gestational day) to 1 injection (on 9th gestational day) morphological abnormalities were reduced without significant lowering in the number of disturbed E.Co.G. So we can see the influence of mode of administration upon effects selectivity.

E.Co.G. abnormalities consisted in paroxysmal activities among 26% of our subjects. This important number directed our biochemical and neuropharmacological researches toward pyridoxine deficiency and subsequently toward decreased convulsive threshold.

Biochemical exploration was first performed on chromatographic determination of uninary indole derivatives. The control study in normal new-born rabbit elicited the distinction among « actinomycinized » animals of developmental retardation or metabolic disorders of enzymic process in tryptophan degradation. Most of disturbances consisted in increased excretion of indican, tryptophan and 3 indolacetic acid.

Those biochemical experiments were particulary interesting by their correlation to serotonin biosynthesis.

From another point of view, plasmatic and cerebral transaminase activities were evaluated in normal and « actinomycinized » young rabbits. T.G.O. and T.G.P. levels demonstrated two kinds of alterations : most of increased levels were correlated to maturational retardation (as observed primitively in neurophysiological trials) ; in the opposite, decreased transamination activity was often observed among sub-convulsive and convulsive animals.

We concluded on alternative possibility related to actinomycin effects : increased transaminase activity might result from synthesis inhibition by this agent on an inactivator protein — as related before by several authors — ;

decreased transaminase activity, as well as tryptophan metabolism disturbances, might result from perturbations in vitamin B6 metabolic fate — as pyridoxine is the coenzyme in most key reactions.

The upper hypothesis was quite controlled when pentamethylene tetrazol convulsant threshold was shown to be decreased in 42% of treated animals.

In fact, maturational retardations were bound to paroxysmal activities observances in the light of biochemical and neuropharmacological results. When cumulating the whole experimental data, both E.Co.G. disturbances were associated with similar pathologic patterns in indol metabolism assays and convulsive threshold determinations. More over, each abnormality mentionned above was able to regress in few cases.

Cumulation of pathologic patterns observed in these different experimental ways seems to demonstrate obviously general effect of actinomycin D. In that case, ontogenetic enzymatic synthesis was singularly concerned with sub-teratogenic manifestations.

To be concluded, teratogenic agents are able to produce significant modifications in ontogenetic process ; sub-teratogenic induced metabolic and functionnal abnormalities studied with convenient general tests open a field in patho-physiological research.

BIBLIOGRAPHIE

ABELSON N.M. et BOGGS T.R. (1956). Serum glutamic oxalacetic transaminase acivity in hemolytic disease of the new-born.
Amer. J ; Dis. child. **92**, 512.

ADAMS C.E. (1959). Prenatal mortality in the rabbit.
J. Endocrinol. **19**, (4), 325-44.

AMOROSO E.C. (1961). Histology of the placenta.
Brit. Med. Bull. **17**, (2), 81-90.

ANGGARD L. (1965). An electrophysiological study of the development of cochlear functions in the rabbit.
Acta Otolaryngol. supplément 203.

ATA-MURADOVA (1963)
Physiol. Zhur. SSSR **49**, (7), 781-9.

BAKER J.B.E. (1960). The effect of drugs on the foetus.
Pharmacol. Rew. **12**, 37-90.

BAL A.K. et GROSS P.R. (1963). Mitosis and differenciation in roots treated with actinomycin.
Science **139**, (3555), 584-6.

BARTLEY S.H. et BISHOP G.H. (1933). The cortical response to stimulation of the optic nerve in the rabbit.
Amer. J. Physiol. **103**, 159.

BERL S. (1964). Post natal changes in amino-acid metabolism of kitten brain.
Progress in brain research **9**, 178-82. Elsevier Publish.

BERL S. (1965). Compartmentation of glutamic acid metabolism in developing cerebral cortex.
J. Biol. Chem. **240**, (5), 2047-54.

BERMAN J.L., JUSTICE P. et HSIA D.Y-Y. (1965). The metabolism of 5-hydroxy tryptamin (serotonin) in the new-born.
J. Pediatry **67**, (4), 603-8.

BERRY M. et ROGERS A.W. (1965). The migration of neuroblasts in the developing cerebral cortex.
J. Anat. **99**, (4), 691-709.

BISHOP E.J. (1950). The strychnin spike as a physiological indicator of cortical maturity in the post natal rabbit.
J. EEG Clin. Neurophysiol. **2**, 309-15.

BLACK R.E. (1964). Transaminase activity in homogenates of developing eggs of the sea urchin.
Exptl. Cell Res. **33**, (3), 613-5.

BOISSIER J.R. et LECHAT P. (1960). Le rôle de l'expérimentation animale dans la précision des incidents et des accidents thérapeutiques.
Thérapie **15**, 1295-1311.

BOISSIER J.R. (1963). A propos de la recherche des effets tératogènes des médicaments.
Presse Médicale **71**, (14), 737-8.

BOLLES R.C. et WOODS P.J. (1964). The ontogeny of behaviour in the albino rat.
Animal Behaviour **12**, (4), 427-42.

BONAVITA V., PONTE F. et AMORE G. (1964). Lactate dehydrogenase isoenzymes in the nervous tissue. IV an ontogenetic study on the rat brain.
J. Neurochem. **11**, (1), 39-47.

BRACHET J. et DENIS H. (1963). Effects of actinomycin D on morphogenesis.
Nature **198**, (4876), 205-6.

BREUER Ch. B. et DAVIS F.F. (1964). Limited action of actinomycin D on protein synthesis in adrenalectomized rats.
Biochem. Biophys. Res. Com. **14**, (3), 215-19.

BRIZZEE K.R., VOGT J. et KHARETCHKO X. (1964). Post natal changes in glia/neuron index with a comparison of methods of cell enumeration in the white rat.
Progress in brain research **4**, 136. Elsevier Publish.

BROCK N. et von KREYBIG Th. (1964 a). Teratogenese alls pharmakologisch-toxikologisches Problem.
Arzn. Forsch. **14**, (6), 655-64.
(1964 b). Experimenteller Beitrag zur Prüfung teratogener Wirkungen von Arzneimitteln an der Laboratoriumsratte.
Arch. exp. Path. u. Pharmak. **249**, (2), 117-45.

BULLOCK E. et JOHNSON A.W. (1957). Actinomycins - part V. The structure of actinomycin D.
J. Chem. Soc. 3280-5.

BURDICK C.J. et STRITTMATTER C.J. (1964). Appearance during development of biochemical components related to acetylcholin metabolism during the embryonic development of chick brain.
Arch. Biochem. Biophys. **109**, (2), 293-301.

CADILHAC J., PASSOUANT-FONTAINE Th., MIHAILOVIC L. et PASSOUANT P. (1960). L'épilepsie expérimentale du Chaton en fonction de l'âge. Etude corticale et sous-corticale.
Pathol. Biol. **8**, 1571-81.

CADHILAC J. et PASSOUANT-FONTAINE Th. (1961). Décharges épileptiques et activité électrique de veille et de sommeil dans l'hippocampe au cours de l'ontogénèse.
Colloque du CNRS ref. 107 Montpellier.

CAHEN R. (1964). Evaluation of the teratogenicity of drugs.
Clin. Pharmacol. Therap. **5**, (4), 480-514.

CAMPBELL H.J. et EAYRS J.T. (1965). Influence of hormones on the central nervous system.
Brit. Med. Bull. **21**, (1), 81-6.

CASSIN S. et HERRON C.S. (1961). Cerebral enzyme changes and tolerance to anoxia during maturation in the rabbit.
Amer. J. Physiol. **201**, (3), 440-2.

CAVALERI L.F. et NEMCHIN R.G. (1964). The mode of interaction of actinomycin D with deoxyribonucleic acid.
B.B.A. **87**, (4), 641-52.

CHASSAGNE P. et LECHAT P. (1962). A propos de l'effet tératogène des médicaments.
Thérapie **17**, 743-55.

CHEKUNOV A.S. (1964). Histochemical investigation of thiol groups of proteins in the structure of the optical analyser of rabbits and Guinea piggs in ontogenesis.
Zh. Vyss. Nerv. Deyat Pavlova **14**, (1), 155-60.

CHESLER A. et HIMWICH H.E. (1944 a). Comparative studies of the rates of oxidation and glycolysis in the cerebral cortex and brain stem of the rat.
Amer. J. Physiol. **141**, 513-7.
(1944 b). Glycolysis in the parts of the central nervous system of cats and dogs during growth.
ibid. **142**, 544-9.

CIER A., JOUVET M., DUBROCARD S. et MICHEL F. (1965). Carence en vitamine B6 et sommeil chez le Rat.
Ann. Nutr. Aliment. **19**, (1), C 611-22.

CLEMENT L., MARKERT C.L. et MOLLER F. (1959). Multiple form of enzymes : tissue, ontogenetic and species specific patterns.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. **45**, 753-63.

COURSIN D.B. (1954). Convulsive seizures in infance with pyridoxino deficient diet.
J.A.M.A. **154**, 406-8.
(1955). Vitamin B6 deficiency in infance. A follow up study.
Amer. J. Dis. Child. **90**, 344-8.

CRAIN S.M. (1952). Development of electrical activity in the cerebral cortex of the albino rat.
Proc. Soc. Exptl. Biol. **81**, 49-51.

CREVAR G.E. et SLOTNICK I.J. (1964). A note on the stability of actinomycin D.
J. Pharm. Pharmacol. **16**, 429-32.

CUARON A., GAMBLE J., MYANT N.B. et OSORIO C. (1963). The effect of thyroïde deficiency on the growth and deposition of brain phospholipids in foetal and new born rabbit.
J. Physiol. **168**, (3), 613-30.

DAHLER R.P. (1963). Untersuchungen über den Tryptophanabbau und den Vitamin B6 Stoffwechsel beim Neugeborenen und beim Saugling.
Ann. Paediatric. **200**, (5), 346-62.

DANIEL J.C. Jr. (1964). Early growth of rabbit trophoblast.
The Amer. Naturalist **XCVIII**, (899), 85-96.

DAVIS R.L. (1958). Electrolyte inbalance in vitamin B6 deficient rats.
J. Biol. Chem. **230**, 889-95.

DE LAEY P., HOOFT C., TIMMERMANS J. et SNOECK J. (1964). Biochemical aspects of the Hartnup disease :
I. — results of intravenous and oral tryptophan loading tests in a case of Hartnup disease.
II. — some observations on rats about tryptophan metabolism.
Ann. Paediatric. **202**, (3), 145-61 et **202**, (5), 253-62.

DELHAY-BOUCHAUD N. (1964). Etude de l'évolution du potentiel évoqué somesthésique chez le Lapin pendant la période néonatale.
Thèse de Doctorat — Paris.

DEMENT W. et KLEITMAN N. (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility and dreaming.
J. EEG Clin. Neurophysiol. **9**, 673-90.

DEMPSEY E.W. (1959). Fine structure of the nervous system in relation to the process of aging.
in Process of aging in the nervous system. J.E. BIRREN et Coll. Edit. BLACKWELL Publish. pp. 24-39.

DENIS H. (1963). Effet de l'actinomycine sur la différenciation nerveuse de l'ectoblaste chez les embryons d'amphibiens.
Exptl. Cell. Res. **30**, (3), 613-5.
(1964). Effets de l'actinomycine sur le développement embryonnaire : I. — étude morphologique ; II. — étude autoradiographique ; III. — étude biochimique. Developmental Biol. **9**, (3), 435-83.

DENYS A., LEVY J. et MICHEL-BER E. (1963). Divergence des effets protecteurs vis-à-vis de la sensibilisation à l'épilepsie acoustique chez la Souris. Commentaires sur le rôle du GABA au niveau du système nerveux central.
Thérapie **18**, (6), 1524-31.

DE SALVA S.J., EVANS R.A., STUBBS R. et BOBALIK G. (1958). Brain excitability in relation to age and hypophysectomy.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **99**, 658-60.

DE SALVA S.J. et EVANS R.A. (1959). Effects of endocrine deficiency on EEG in rats.
Fed. Proc. **18**, (1), 1514.

DOBBING J. (1964). The influence of early nutrition on the development and myelinisation of the brain.
Proc. Roy. Soc. **159**, 503-9.

DONE A.K. (1964). Developmental pharmacology.
Clin Pharmacol. Therap. **5**, (4), 432-80.

DRAVID A.R. et HIMWICH W.A. (1964). Biochemical studies on the central nervous system of the dog during maturation.
Progress in brain research **9**, 170-3.

DRISCOLL S.G. et HSIA D. Y-Y. (1958). The development of enzyme systems during early infancy.
Pediatrics **22**, 785-845.

EAYRS J.T. (1955). Hypothyroidism in relation to the maturation of the cortex.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSH Edit. Acad. Press, pp. 443-9.

EBOUE-BONIS D. (1963). Action of insulin ont the isolated rat diaphragm in the presence of actinomycin D and puromycin.
Nature **199**, 1183-4.

ECKSTEIN B. (1963). Glutamic oxalacetic transaminase activity in the ovary of hypothyroid and vitamin B6 deficient rats.
Endocrinology **72**, (5), 777-81.

ECKSTEIN B. et PASTER Z. (1963). The effect of starvation and vitamin B6 deficiency on gonadotrophin stimulated glutamic-oxalacetic transaminase.
Israel J. Zool. **12**, (1-4), 35-40.

EISENSTEIN R. et PASSAVOY M. (1964). Actinomycin D inhibits parathyroid hormone and vitamin D activity.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **117**, (1), 77-9.

ELLINGSON R.T. et WILLCOTT R.C. (1960). Development of evoked responses in visual and auditory cortices of kittens.
J. Neurophysiol. **23**, 363.

ESH. G.C. (1964). Influence of the vitamin B6 on the transaminase activities in the tissues of rats.
Ann. Biochem. Exptl. Med. **23**, 471-8.

FAVE A. (1964). Les embryopathies provoquées chez les mammifères.
Thérapie **19**, (1), 43-164.

FICQ A. (1964). Effets de l'actinomycine D et de la puromycine sur le métabolisme de l'oocyte en croissance.
Exptl. Cell. Res. **34**, (3), 581-95.

FLEXNER L.B. et TYLER D.B. (1950). Biochemical and physiological differenciation during morphogenesis : outset of electrical activity in developing cerebral cortex of fœtal guinea pigs.
J. Neurophysiol. **13**, 427-30.

FLEXNER L.B. (1955). Enzymatic and functional patterns of developing mammalian brain.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSH Edit. Acad. Press Publish, pp. 281-300.
(1959). Histochemistry of the nervous system in relation to the process of aging.
in Process of aging in the nervous system J.E. BIRREN et Coll. Edit. BLACKWELL Publish., pp. 66-72.

FLICKINGER R.A. (1963). Actinomycin D effects in frog embryos : evidence for sequential synthesis of DNA-dependent RNA.
Science **141**, 1063-4.

FLINT M. et LATHE G.H. (1964). Development of glucuronyl transferase and other enzyme systems in the new born rabbit.
Quarter. J. Exptl. Physiol. **49**, (1), 66-73.

FOIS A. et LECCHINI L. (1964). Acute cerebellar ataxia associated with some features of the Hartnup disease.
Helv. Paediatr. Acta **19**, (1), 42-50.

FOLCH PI J. (1955). Composition of the brain in relation to maturation.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSH Edit. Acad. Press Publish, pp. 121-36.
FOURMENT A. et CRAMER H. (1961). Réponses corticales visuelles du Lapin soumis durant son développement à une stimulation lumineuse.
Revue Neurol. **105**, (3), 196-7.
FOUTS J.R. et ADAMSON R.H. (1959). Drug metabolism in the new born rabbit.
Science **129**, 897-8.
FOX M.W. (1964). A phylogenetic analysis of behavioral neuro-ontogeny in precocial and non-precocial mammals.
Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. **28**, (8), 197-202.
(1965 a). Neuro-ontogeny of neuromuscular mutant mice.
J. Heredity **56**, (2), 55-60.
(1965 b). Reflex ontogeny and behavioral development of the mouse.
Animal Behaviour **13**, (2-3), 234-41.
FREYSZ L., NUSSBAUM J.L., BIETH R. et MANDEL P. (1963). Les phospholipides du cerveau de Rat au cours de la croissance post-natale.
Bull. Soc. Chim. Biol. **45**, (9-10), 1019-29.

GAL E.M., MORGAN M., CHATTERJEE S.K. et MARSHALL F.D. (1964). Hydroxylation of tryptophan by brain tissue in vivo, and related aspects of 5 hydroxytryptamin metabolism.
Biochem. Phamacol. **13**, 1639-53.
GARCIA-AUSTT J.R. (1954). Development of electrical activity in cerebral hemispheres of chick embryos.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **86**, 348-52.
GARREN L.D., HOWELL R.H. et TOMKINS G.M. (1964). A paradoxical effect of actinomycin D : the mechanism of regulation of enzyme synthesis by hydrocortisone.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **52**, (4), 1121-9.
GASTAUT H., NAQUET R., MEYER A., CAVANAGH J.B. et BECK E. (1959). Experimental psychomotor epilepsy in the cat : electro-clinical and anatomopathological correlations.
J. Neuropathol. Exptl. Neurol, **18**, 270.
GELOSO J.P. (1961). Date d'entrée en fonction de la thyroïde chez le foetus de Rat.
C.R. Soc. Biol. **155**, 1239-41.
GIROUD A. (1955). Les malformations congénitales et leurs causes.
Biol. Méd. **44**, 524-609.
GLASS H.G., SNYDER F.F. et WEBSTER E. (1944). The rate of decline in resistance to anoxia of rabbits, dogs and Guinea pigs, from the onset of viability to adult life.
Amer. J. Physiol. **140**, 609.
GOGOLAK G., PETSCHE H. et STUMPFF Ch. (1963). Die Entwicklung des Hippocampus-Theta-Rythmus bein Kaninchen.
Pflüger Arch. **277**, 166-77.
GOLDBERG I.H. et RABINOWITZ M. (1962). Actinomycin D inhibition of deoxiribonucleic acid-dependent synthesis of ribonucliec acid.
Science **136**, 315-6.
GRAVES J. et HIMWICH H.E. (1955). Age and water content of rabbit brain parts.
Amer. J. Physiol **180**, 205-9.
GREENGARD O., SMITH M.A. et ACS G. (1963). Relation of cortisone and synthesis of ribonucleic acid to induced and developmental enzyme formation.
J. Biol. Chem. **238**, 1548-51.
GREGORY F.J., VINING L.C. et WAKSMAN S.A. (1955). Actinomycin. IV ; classification of the actinomycins by paper chromatography.
Antibiotics Chemotherapy **5**, 409-16.
GROBSTEIN C. (1964). Cytodifferenciation and its controls.
Science **143**, (3607), 643-9.
GROSS P.R. et COUSINEAU G.H. (1963). Effects of actinomycin D on macromolecule synthesis and early development in sea urchin eggs.
Biochem. Biophys. Res. Comm. **10**, (4), 321-6.
(1964). Macromolecule synthesis and the influence of actinomycin on early development.
Exptl. Cell. Res. **33**, (3), 368-95.
GROSSMAN C. (1954). Relationship of form and frequency of experimental epileptic discharges to age.
Proc. Soc. Exptl. Bio. Med. **86**, (1), 43-6.
(1955). Electro-ontogenesis of cerebral activity. Forms of neonatal responses and their reccurence in epileptic discharges.
Archiv. Neurol. Psychiatry **74**, 186-202.
GUERRERO-FIGUEROA R. (1963). Experimental petit mal in kittens.
Archiv. Neurol. **9**, (3), 297-306.
GUROFF G. et UNDENFRIEND S. (1964). The uptake of amino-acids by the brain of mature and new born rats.
Progress in brain research **9**, 187-97.
HAGBERG B., HAMFELT A. et HANSSON O. (1964). Epileptic children with disturbed tryptophan metabolism treated with vitamin B6.
Lancet 145.
HALPERN B.N. (1962). Modifications de la toxicité de l'histamine au cours du développement post-natal chez la Souris.
C.R. Soc. Biol. **156**, (8-9), 1536-8.
HAMBURG M. (1964). Analysis of the influence of thyroid hormone on prenatal and postnatal maturation of the rat.
Anat. Rec. **150**, (2), 147-62.
HARRIS G. W. (1955). The relationship between endocrine activity and the development of the nervous system.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSCH Edit. Acad. Press Publish. pp.
(1964). Sex hormones, brain development and brain function.
Endocrinology **75**, (4), 627-48.
HASSMANOVA J., MYSLIVECEK J., ROKYTA R. et ZAHLAVA J. (1964). The development of diencephalocortical portion of the auditory pathway.
Activitas Nerv. Sup. **7**, (2), 105-46.
HEBB C.O. (1956). Cholineacetylase in the developing nervous system of the rabbit.
J. Physiol. **133**, 566-70.
HENDERSON N.D. (1963). Effect of prior runway experience on avoidance learning.
Psychol. Reports. 575-82.
(1964). Behavioral effects of manipulation during different stages in the development of mice.
J. Comp. Physiol. Psychol. **57**, (2), 284-9.
HERBST R.M. (1944). The transamination reaction.
Advances in enzymology **4**, 75-87.
HERRMANN H. et TOOTLE M.L. (1964). Specific and general aspects of the development of enzymes and metabolic pathways.
Physiol. Rev. **44**, (2), 289-371.
HIMWICH H.E. (1951). Brain metabolism and cerebral desorders.
Williams and Wilkins Co. Publish (Baltimore).
HIMWICH H.E. et APRISON M.H. (1955). The effect of age on cholinesterase activity of rabbit brain.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSCH Edit. Acad. Press Publish. pp. 301-7.
HIMWICH H.E. et HIMWICH W.A. (1955). The permeability of the blood-brain barrier to glutamic acid in the developing rat.
ibid. pp. 202-7.

HIMWICH W.A., PETERSEN J. et GRAVES J. (1961). Recent advances in biological psychiatry. Vol. III Acad. Press Publish.

HIMWICH W.A. (1962). Biochemical and neurophysiological development of the brain in the neonatal period.
Internatl. Rev. Neurobiol. **4**, 117-58.
(1963). Comparative biochemical development of fetal human, dog and rabbit brain.
Recent Adv. Biol. Psychiatry **5**, 263-78.

HOLZER H. et HIERHOLZER G. (1963). Hemmung der Synthese von DPN abhängiger Glutamatdehydrogenase in Hefer durch Actinomycin C.
B.B.A. **77**, (2), 329-32.

HOLTZ P. et PALM D. (1964). Pharmacological aspects of vitamin B6.
Pharmacol. Rev. **16**, (2), 113-78.

HOOFT C., DE LAEY P., TIMMERMANS et SNOECK J. (1962). La maladie de Hartnup.
Acta Paediatric. Belg. **16**, (5), 281-301.

HUNT A.D., STOKES J., Mc CRORY W.W. et STROUD H.H. (1954). Pyridoxino-dependency : report of a case of intractable convulsions in an infant controlled by pyridoxine.
Pediatrics **13**, 140-5.

HUNT W.E. et GOLDRING S. (1951). Maturation of evoked response of the visual cortex in the postnatal rabbit.
J. EEG. Clin. Neurophysiol. **3**, 465-71.

INGVAR D.H. (1955). Reproduction of the three per second spike and wage EEG pattern by subcortical electrical stimulation in cats.
Acta Physiol. Scand. **33**, 135-50.

JEPSON J.B. (1955). Indoles and related Ehrlich reactors.
in Chromatographic techniques South Edit. Intersci. Publish. Vol. I.

JILEK L. et FISHER J. (1964). The reaction of the brain to stagnant hypoxia and anoxia during ontogeny.
Progress in brain research **6**, 113-31.

JOLLEY R.L. et LABBY D.H. (1960). Development of brain enzymes concerned with glutamic acid metabolism in fetal monkey and pig.
Archiv. Biochem. **90**, 122-4.

JONDORF W.R., MAICKEL R.P. et BRODIE B.B. (1958). Inability of new born mice and Guinea pigs to metabolize drugs.
Biochem. Pharmacol. **1**, 352-6.

JONES K.W. et ELSDALE T.R. (1964). The effects of actinomycin D on the ultrastructure of the nucleus of the amphibian embryonic. cell.
J. Cell Biol. **21**, (2), 245-52.

JORDAN W.K., MARCH R. et MESSING R.A. (1956). Chemical changes in postnatal development of rat brain in relation to structure and functional differenciation.
in Neurochemistry KOREY Edit. pp. 101-13.

JOST A. (1948). Influence de la décapitation sur le développement du tractus génital et des surrénales de l'embryon de Lapin.
C.R. Soc. Biol. **142**, 273-5.

JOST A. (1953). Problems of fetal endocrinology : the gonadal and hypophysal hormones.
Recent Progress in Hormone Research **8**, 379-413.
(1964). Désordres hormonaux et tératogénèse.
Bull. Acad. Suisse Sci. Med. **20**, (4-6), 460-9.

JOUVET M., MICHEL F. et COURJON J. (1959). Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique.
C.R. Soc. Biol. **153**, 1024-8.

KAFER E. et POLLAK J.K. (1961). Aminoacid metabolism of growing tissues : II. — alanine glutamic acid transaminase activity of embryonic rat liver.
Exptl. Cell Res. **22**, 120-7.

KAHAIRA M. et PRICE J.M. (1962). The metabolism of quinaldic acid, kynurenic acid and xanthurenic acid in the rabbit.
J. Biol. Chem. **237**, (5), 1727-9.

KALTER H. et WARKANY J. (1959). Experimental production of congenital malformations in mammals by metabolic procedure.
Physiol. Rev. **39**, (1), 69-115.

KARASIK V.M. (1959). Referat. Zhur. Biol. URSS n° 63.490.

KARKI N., KUNTZMAN R. et BRODIE B.B. (1962). Storage synthesis and metabolism of mono-amines in the developing brain.
J. Neurochem. **9**, 53-8.

KATO R., VASSANELLI P., FRONTINO G. et CHIESARA E. (1964). Variation of the activity of liver microsomal drug-metabolizing enzymes in rats, in relation to the age.
Biochem. Pharmacol. **13**, (7), 1037-51.

KEMENY V. (1964). Adrenal function of newborn adult rats.
Acta Physiol. **25**, (1), 31-8.

KLEE C.B. et SOKOLOFF L. (1964). Mitochondrial differences in mature and immature brain. Influence on rate of amino-acid incorporation into protein and responses to thyroxine.
J. Neurochem. **11**, (10), 709-17.

KLEIN N.W. et PIERRO L.J. (1963). Actinomycin D : specific inhibitory effect on the explanted chick embryo.
Science **142**, (3594),967-9.

KOPELOFF L.M. et CHUSID J.G. (1963). Methoxypyridoxine convulsions in epileptic and non-epileptic mice, protective action of pyridoxine.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **114**, (2), 496.

KORBITZ B.C., PRICE J.M. et BROWN R.R. (1963). Quantitative studies on tryptophan metabolism in the pyridoxine deficient rat.
J. Nutrition **80**, (1), 55-9.

KORNMULLER A.E. (1935). Die bioelektrischen Erscheinungen architektonischer Felder der Grosshirnrinde
Biol. Rev. **10**, 383-425.

KOVE S., GOLDSTEIN S. et WROBLEWSKI F. (1957). Activity of glutamic-oxalacetic transaminase in the serum in the neonatal period.
Pediatrics **20**, (4), 584-9.

KRALL A.R., LEVER P.G., VILLAVERDE R. et BILLET B. (1963). Studies on urinary indoles in mental patients.
J.A.M.A. **184**, (4), 280-2.

KRETCHMER M. (1959). An approach to a biochemical definition of immaturity.
Pediatrics **23**, 606-17.

KRETCHMER M. GRENNBER R.E. et SERENI F. (1963). Biochemical basis of immaturity.
Ann. Rev. Med. **14**, 407-26.

KUHLMAN R.E. et LOWRY O.H. (1956). Quantitative histochemical changes during development of rat cerebral cortex.
J. Neurochem. **1**, 173-7.

LABORIT H. et WEBER B. (1965). Essai d'interprétation du mode d'action métabolique de certains agents neurotropes. VI : le pentylène tétrazol.
Agressologie **VI**, (2), 197-203.

LAGET P. et DELHAYE N. (1961). Quelques données sur le développement de l'activité électrique corticale spontanée chez le Lapin.
J. Physiol. Paris **53**, 393.
(1962). Etude du développement néonatal des diverses activités électriques corticales chez le Lapin.
Actualités Neurophysiol. **IV.**, 259-84.

LAGET P. et SALBREUX R. (1966). Atlas de l'électroencéphalographie de l'enfant.
1 vol. Masson Edit. Paris.

LALLIER R. (1963). Effets de l'actinomycine D sur le développement normal et sur les modifications expérimentales de la morphogénèse de l'œuf d'Oursin.
Expérientia **XIX**, (11), 572-3.

LAUFER H., NAKASE Y. et VANDERBERG J. (1964). Developmental studies of the dipteran salivary gland : effects of actinomycin D on larval enzyme activity and chromosomal differenciation in Chironomus thummi.
Developmental Biol. **9**, (3), 367-84.

LASH J.W. (1964). Normal embryology and teratogenesis.
Amer. J. Obstetrics Gynecol. **90**, (7 part 2), 1193-1207.

LEHMAN A. (1963). Le GABA est-il un inhibiteur du système nerveux central.
Thérapie **XVIII**, (6), 1509-23.

LELUC R., LEMONNIER A., CHARPENTIER C. et THUONG-CONG-TRIEU (1964). Les bases biochimiques et analytiques de l'exploration du métabolisme de la phénylalanine.
Sem. Hop. Paris (Ann. Ped.) **40**, (11-3), 643-50.

LEVI-MONTALCINI R. (1964). Growth control of nerve cells by a protein factor and its antiserum.
Science **143**, (3602), 105-110.

LIBERSON W.T. (1961). Epileptic discharges in hippocampal activity.
Colloque du CNRS ref. 107 Montpellier.

LIBET B., FAZEKAS J.F. et HIMWICH H.E. (1941). The electrical response of the kitten and adult cat brain to cerebral anemia and analeptics.
Amer. J. Physiol. **132**, 232-8.

LINDSLEY D.B. (1964). Brain development and behaviour historical introduction.
Progress in brain research **9**, 1-5.

LONGO V.G. (1962). Effect of drugs on the electrical activity of the rabbit brain.
in Electroencephalographic atlas for pharmacological research.
Elsevier Publish. pp. 65-9.

MAC CAMAN R.E. et APRISON M.H. (1964). The synthetic and catabolic enzyme systems for acetylcholine and serotonin in several discrete areas of the developing rabbit brain.
Progress in brain research **9**, 220-33.

Mc ILWAIN H. (1955). Vitamins in the central nervous system.
in Biochemistry and the central nervous system Churchill Edit. pp. 139-41.

MAJOIE B. et LAGET P. (1964). Technique d'implantation d'électrodes à demeure chez le jeune Lapin.
C.R. Soc. Biol. **143**, (1), 33-6.

MALAKHOVSKAYA D.B. (1963). Individual features in the development of the motor activity of rabbits in the early postnatal period.
Biull. Exptl. Med. Biol. URSS **56**, (9), 13-6.

MARIE J., HENNEQUET A., LYON G., DEBRIS P. et LE BALLE J.C. (1959). Les crises convulsives pyridoxino-sensibles du nouveau-né et du nourrisson.
Sem. Hop. Paris (Ann. Ped.) **35**, 1411-21.
(1961). La pyridoxino-dépendance, maladie métabolique s'exprimant par des crises convulsives pyridoxino-sensibles.
Revue Neurol. **105**, 406-19.

MASCITELLI-CORIANDOLI (1959). Effects of actinomycin C upon the pyridoxal-phosphate contents of the liver.
Biochem. Pharmacol. **2**, (1), 79-80.

MEDINA M.A. (1963). The in vivo effects of hydrazines and vitamin B6 on the metabolism of gamma-aminobutyric acid.
J. Pharm. Exptl. Therap. **140**, (2), 133-7.

MEISTER A. (1955). Transamination.
Advances Enzymol. **16**, 185-246.

MELLIN G.W. (1964). Drugs in the first trimester of pregnancy and the fetal life of Homo sapiens.
Amer. J. Obstetrics Gynecol. **90**, (7), 1169-80.

MELLMAN W.J. (1963). Indolylacroyl-glycine excretion in a family with mental retardation.
Clin. Chim. Acta **8**, (6), 843-8.

MILHAUD G. (1964). Inhibition de l'action hypercalcémiante de la parathormone par l'actinomycine D.
C.R. Acad. Sci. **259**, (4), 896-8.

MOLONEY C.J. et PARMELEE A.H. (1954). Convulsions in young infant as a result of pyridoxine (vitamin B6) deficiency.
J.A.M.A. **154**, 405-6.

MOOG F. (1964). Intestinal phosphatase activity : acceleration of increase by puromycin and actinomycin.
Science **144**, (3617), 414-6.

NACHMANSON D. (1940). Cholinesterase in brain and spinal cord of sheep embryos.
J. Neurophysiol. **3**, 396-402.

NEMETH A.M. (1962). The effect of 5-fluoro-uracil on the developmental and adaptative formation of tryptophan-pyrrolase.
J. Biol. Chem. **237**, (12), 3706-6.

NISMAN B., PELMONT J., DEMAILLY J. et YAPO A. (1963). Effets de l'actinomycine sur la synthèse induite de la β galactosidase et la synthèse du RNA spécifique par une fraction sub-cellulaire d'Escherichia coli K 12.
C.R. Acad. Sci. **256**, 523-6.

OBRAZTSOVA G.A. (1958). Réaction d'orientation en réponse à des stimuli indifférents et conditionnels au cours de l'ontogénèse chez le Chien et le Lapin.
Referat. Zhur. Biol. URSS 248-53.

OLSON R.E. (1964). Vitamin K induced prothrombin formation : antagonism by actinomycin D.
Science **145**, (3635), 926-8.

PALLADIN A.V. (1955). Metabolism of nucleic acids in the brain during its development.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSCH Edit. Acad. Press Publish. pp. 177-84.

PENTZIK A.S. (1937). Ontogenesis of biolectrical activity and of cellular structure of the brain cortex in the rabbit.
Biull. Biol. : Med. Exptl. **4**, 112-8.

PETERSEN J., DI PERRI R. et HIMWICH W.A. (1964). The comparative development of the EEG in rabbit, cat and dog.
J. EEG Clin. Neurophysiol. **17**, 557-63.

PEUPEU (1962). 5 hydroxytryptamin in the developing mammal.
J. Gen. Physiol. **45**, 575-83.

PFEIFFER C.C., JENNEY E.H. et MARSHALL W.H. (1956). Experimental seizures in man and mammals with acute pyridoxine deficiency produced by hydrazides.
J. EEG Clin. Neurophysiol. **8**, 307-15.

PHILIPS F.S., SCHWARTZ H.S., STERNBERG S.S. et TAN C.T.C. (1960). Toxicity of actinomycin D.
Ann. N.Y. Acad. Sci. **89**, 348-60.

PIERRO L.J. (1961). Teratogenic action of actinomycin D in the embryonic chick.
J. Exptl. Zool. **147**, (3), 203-10.
(1962). Teratogenic action of actinomycin D in the embryonic chick. II. — early development.
J. Exptl. Zool. **148**, (3), 241-9.

PIGAVERA Z.D. (1964). Enzyme activity in different areas of the cerebral cortex of rabbits and dogs during growth.
in Problems of the biochemistry of the nervous system PALLADIN Edit. pp. 186-95.
PITTS F.N., QUICK C. et ROBINS E. (1965). The enzymic measurement of γ aminobutyric-α oxogultaric transaminase.
J. Neurochem. **12**, (2), 93-101.
PONOMAREVA T.F. et DREL K.A. (1964). Glutamate-aspartate and glutamate-alanine transaminase activity in tissues of developing embryos.
Biokhim. **29**, (2), 185-90.
POOL W.R. et LIPNER H. (1964). Inhibition of ovulation in the rabbit by actinomycin D.
Nature **203**, (4952), 1385-7.
PORO-CIMA (1955). Influenza dell actinomicina sulla respirazione cellulare.
Archiv. Internatl. Pharmaco. Thérap. **100**, 63-71.
PRITCHARD E.T. (1963). The formation of phospholipids from ^{14}C labeled precursors in developing rat brain in vivo.
J. Neurochem. **10**, (7), 495-502.
(1964). Cholesterol esterase activity in developing rat brain.
B.B.A. **84**, (6), 781-5.
PURPURA D.P. (1961). Analysis of axodendritic synaptic organizations in immature cerebral cortex.
Ann. N.Y. Acad. Sci. **94**, 604-54.
(1964). Relationship of seizure susceptibility to morphologic and physiologic properties of normal and abnormal immature cortex.
in Neurological and electroencephalographic correlative studies in infancy. Kellaway et Petersen Edit. N.Y. pp. 117-57.
PURPURA D.P., SHOFER R.J., HOUSEPIAN E.M. et NOBACK C.R. (1964). Comparative ontogenesis of structure-function relations in cerebral and cerebellar cortex.
Progress in brain research **4**, 187-221.
PYLKKO O.O. et WOODBURRY D.M. (1961). The effect of maturation on chemically induced seizures in rats.
J. Pharmacol. **131**, 185-90.
RAPPOPORT D.A. et MURTHY M.R.V. (1963). Biochemistry of the developing rat brain. III. Mitochondrial oxidation of citrate and iso-citrate and associated phosphorylation.
B.B.A. **76**, (1), 71.
RASSMUSSEN H., ARNAUD C. et HAWKER Ch. (1964). Actinomycin D and the response to parathyroïd hormone.
Science **144**, (3621), 1019-21.
REICH E., FRANKLIN R.M., SHATKIN A.J. et TATUM E.L. (1961). Effect of actinomycin D on cellular nucleic acid synthesis and virus production.
Science **134**, 556-7.
REICH E. (1963). Biochemistry of actinomycins.
Cancer Res. **23**, 1428-41.
REISS M. (1955). The development of endocrine gland function in relation to brain function.
in Biochemistry of the developing nervous system, WAELSCH Edit. Acad. Press Publish pp. 450-7.
REITMAN S. et FRANKEL S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminases.
Amer. J. Clin. Pathol. **28**, 56-65.
RICHTER D. (1955). The metabolism of the developing brain.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSCH Edit. Acad. Press Publish. pp. 225-50.
(1961). Enzymic activity during early development.
British Med. Bull. **17**, 118-21.
(1965).Factors influencing the protein metabolism of the brain.
ibid. **21**, (1), 76-80.
ROCH-RAMEL (1963). Activité de la transaminase glutamique-oxalacétique et propriétés fonctionnelles du ganglion sympathique cervical isolé du Rat.
Helvet. Physiol. Pharmacol. Acta **21**, (4), 292-9.
ROSEN F., PREM-NATH R., MILHOLLAND R.J. et NICHOL Ch. A. (1964). Induction of several adaptative enzymes by actinomycin D.
Science **146**, (3644), 661-3.
ROY J.K. et PRICE J.M. (1959). The identification of quinoline derivatives obtained from the urine of normal rabbits and swine.
J. Biol. Chem. **234**, (10), 2759-63.
RUDNICK D. et WAELSCH H. (1955). Development of glutamotransferase in the nervous system of the chick.
in Biochemistry of the developing nervous system. WAELSCH Edit. Acad. Press Publish. pp. 335-8.
SALVATORE F. et BOCCHINI V. (1961). An improved method for determining pyruvic acid levels in tissues. Estimation of aspartic-ketoglutaric and alanine-ketoglutaric transaminases.
Clin. Chim. Acta **6**, 109-12.
SAMUELS L.D. (1964). Actinomycin and its effects.
New England. J. Med. **271**, (25), 1301-8.
SCHADE J.P. (1959). Maturational aspects of EEG and of spreading depression in rabbit.
J. Neurophysiol. **22**, 245-57.
SCHADE J.P. et BAXTER C.F. (1960). Changes during growth in the volume and surface area of cortical neurones in the rabbit.
Exptl. Neurol. **2**, 158-78.
SCHADE J.P., CORNER M.A. et PETERS J.J. (1965). Some aspects of the electro-ontogenesis of sleep patterns.
Progress in brain research **18**, 70-8.
SCHEIBEL M. et SCHEIBEL A. (1964). Some structural and functional substrates of development in young cats.
Progress in brain research **9**, 6-25.
SCHWARTZ S. (1964). Effect of neonatal cortical lesions and early environmental factors on adult rat behavior.
J. Comp. Physiol. Psychol. **57**, (1), 72-7.
SCHWARTZE P. et GOPFERT E. (1965). Urethane induced changes of the electrical activity of rabbit brain in postnatal development.
Activitas Nerv. Sup. **7**, (1), 37-40.
SCRIVER Ch. R. (1961). Abnormalities of tryptophan metabolism in a patient with malabsorption syndrome.
J. Lab. Clin. Med. **58**, (6), 908-19.
SERENI F., KENNEY F.T. et KRETCHMER N. (1959). Factors influencing the development of tyrosine-α ketoglutarate transaminase activity in rat liver.
J. Biol. Chem. **234**, 609-13.
SHARMA K.N., DUA S., SINGH B. et ANAND B.K. (1964). Electro-ontogenesis of cerebral and cardiac activities in the chick embryo.
J. EEG. Clin. Neurophysiol. **16**, (5), 503-9.
SIOU G. (1962). L'activité cholinestérasique dans les tubercules quadri-jumeaux antérieurs au cours du développement post-natal chez le Lapin.
Archiv. Anat. Micro. Morphol. Exptl. **51**, (3), 287-324
SLOANE H.N. et CHOW B.F. (1964). Vitamin B6 deficiency and the initial acquisition of behavior.
J. Nutrition **83**, (4), 379.
SLOTNICK I.J. (1957). Studies on the mechanism of actinomycin D inhibition of Bacillus subtilis. I Failure to demonstrate pantothenate relationship.
J. Antibiotics Chemotherap. **7**, 387-90.
(1958). II. Interference with ammonia assimilation and adaptative enzyme formation.
ibid. **8**, 476-9.

SMITTEN N.A. (1963). Cytological analysis of catecholamine synthesis in the ontogenesis of vertebrates and problems of melanogenesis.
Gen. Comp. Enocrinol. **3**, (4), 362-77.
SOBOTKA P., MYSLIVECEK J., ZAHLAVA J., ROKYTA R. et HASSMANOVA J. (1965). Age differences in the effect of drugs with synaptical activity on EEG and evoked potentials.
Activitas Nerv. Sup. **7**, (2), 129-32.
SPECTOR W.S. (1956). Handbook of biological data.
Saunders & Co Publish.
SPRINCE H., LOWY R.S., FOLSOME C.E., BEHRMAN J.S. et RARITAN C.B. (1951). Studies of the urinary excretion of xanthurenic acid during normal and abnormal pregnancy : a survey of the excretion of xanthurenic acid in normal non-pregnant, normal pregnant, pre-eclamptic and eclamptic women.
Amer. J. Obstetrics Gynecol. **62**, (1), 84-92.
SRERE P.A., CHAIKOFF J.L., TREITMEN S.S. et BURSTEIN L.S. (1950). Extrahepatic synthesis of cholesterol.
J. Biol. Chem. **182**, 629-32.
STALLBERG-STENHAGEN S. et SVENNERHOLM L. (1965). Fatty acid composition of human brain sphingomyelins : normal variations with age and changes during myelin disorders.
J. Lipid Res. **6**, (1), 146-55.
STAVE U. (1965). Age dependent changes of metabolism. I Studies of enzyme patterns of rabbit organs.
Biol. Neonat. **6**, (3), 128-47.
SWAIMAN K.F. (1963). Interrelationships of glucose and glutamic acid metabolism in developing rabbit brain.
J. Neurochem. **10**, 635-9.
SWAIMAN K.F. et MILSTEIN J.M. (1964). Oxidative decarboxylation of aspartate alanine and glycine in developping rabbit brain.
B.B.A. **93**, (1), 64-70.
TALWAR G.P. et SEGAL S.J. (1963). Prevention of hormone action by local application of actinomycin D.
Proc. Natl. Acad. Sci **50**, (2), 226-30.
TATA J.R. (1963). Inhibition of the biological action of thyroid hormones by actinomycin D and puromycin.
Nature **197**, (4873), 1167-8.
« Thérapie » (1963). Débat sur le pouvoir tératogène éventuel des médicaments.
XVIII, (1), 15-28.
THOMSON M.A. (1965). Développement des activités hippocampiques spontanées et provoquées chez le jeune Lapin.
C.R. Soc. Biol. sous presse.
TILNEY F. et ROSETT J. (1931). The value of brain lipoids as an index of brain development.
Bull. Neurol. Inst. **1**, 48.
TORCHINSKII Y.M. (1963). Aspartate glutamate apotransaminase interactions with pyridoxal phosphate and some of its derivatives.
Biokhim. **28**, (4), 731-40.
TOWER D.B. (1958). Glutamic acid metabolism in the mammalian central nervous system.
in Proceedings of the IV th international congress of biochemistry Vienne vol. III Pergamon Press Edit pp. 213-50.
TUCHMANN-DUPLESSIS H. et MERCIER-PAROT L. (1954). Influence de la cortisone sur la gestation de la Rate et sur le développement post-natal du Rat.
C.R. Acad. Sci. **239**, (23), 1689-91.
(1958). Sur l'activité tératogène chez le Rat de l'actinomycine D.
ibid. **247**, 2200-3.
(1959 a). Production de diverses malformations par administration d'actinomycine D à la Rate gestante.
C.R. Soc. Biol. **153**, 386-8.
(1959 b). A propos de l'action tératogène de l'actinomycine.
ibid. **153**, 1697-1700
(1960). Influence de l'actinomycine D sur la gestation et le développement fœtal du Lapin.
ibid. **154**, 914-6.
TUCHMANN-DUPLESSIS H. (1960). The teratogenic action of the antibiotic actinomycin D.
Symposium CIBA on Congenital Malformations London pp. 115-29.
TUCHMANN-DUPLESSIS H. et MERCIER-PAROT L. (1964 a). A propos des tests tératogènes. Malformations spontanées du Lapin.
C.R. Soc. Biol. **158**, (4), 666.
(1964 b). Considérations sur les tests tératogènes. Différences de réaction de trois espèces animales à l'égard d'un antitumaral.
ibid. **158**, (11), 1984.
TYCE G.M., FLOCK E.V. et OWEN Ch. A. (1964). Tryptophan metabolism in the brain of the developing rat.
Progress in brain research **9**, 198-203.
TYLER D.B. et Van HARREVELD A. (1942). The respiration of the developing brain.
Amer. J. Physiol. **136**, 600-3.
UCHIDA K., KADOWAKI M. et MIYAKE T. (1965). Failure of estrogen to produce a hypocholesterolemic effect in immature rats.
Endocrinology **76**, (4), 766-70.
UHR J.W. (1963). Actinomycin D. Its effects on antiboddy formation in vitro.
Science **142**, 1476.
VALATX J.L. et JOUVET D. (1964). Evolution électroencéphalographique des différents états de sommeil chez le Chaton.
J. EEG Clin. Neurophysiol. **17**, (3), 218-32.
VALORA N. (1963). EEG alterations in rats carents in pyridoxine.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. **39**, (23), 1521-4.
Van der BERG J.C. et Van KEMPEN G.M.J. (1964). Glutamate decarboxylase and amino-butyrate transaminase in developing rat brain.
Experientia **20**, 375.
VILENKINA G.Y. (1958). Déficience en vitamine B6 durant la grossesse normale et la toxémie de la grossesse.
Vopr. Med. Khim. **4**, (6), 425-30.
VOS J. et Van der HELM H.J. (1965). Some biochemical aspects of the developing rabbit and chick brain.
Acta Physiol. Pharmacol. Neerl. **13**.
WACHSTEIN W. et GUDAITIS A. (1952). Disturbance of vitamin B6 metabolism in pregnancy.
J. Lab. Clin. Med. **40**, 550-7.
WAELSCH H. (1965). The turnover of components of the developing brain ; the blood-brain barrier.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSCH Edit. Acad. Press Publish. pp. 187-99.
(1965). Fixation du gaz carbonique dans le système nerveux.
Actualités Neurophysiol. **VI**, 29-42.
WAKSMAN S.A. et WOODRUFF H.B. (1940). Bacteriostatic and bacterial substances produced by a soil actinomyces.
Proc. Soc. Exptl. Biol. **45**, 609-14.
WEBB O.L. et DAVIS W.M. (1964). Maturational chan in the response of rats to a convulsant drug.
Archiv. Int. Pharmaco. Thérap. **150**, (1-2), 177-85.
WEBER F. et WISS O. (1963). Uber die unterschiedliche Beeinflussung des Tryptophanstoffwechsels durch Vitamin-B6 — Mangel in der Ratte.
Hoppe Seyler's Zeitsch. Physiol. Chem. **331**, 124-31

WEBER G., SINGHAL R.L. et STAMM N.B. (1963). Actinomycin inhibition of cortisone-induced synthesis of hepatic glucogenic enzymes.
Science **142**, (3590), 390-2.

WEBER G. et SINGHAL R.L. (1964). Actinomycin, puromycin and ethionine inhibition of synthesis of gluconeogenic enzymes in acute diabetes.
Metabolism **13**, (1), 8-11.

WEIL-MALHERBE (1955). Blood adrenaline and intelligence.
in Biochemistry of the developing nervous system WAELSCH Edit. Acad. Press Publish. pp. 458-66.

WENDER M. (1964). Activation of amino-acids by « ph 5 enzymes » in the developing nervous system of Guinea piggs.
Progress in brain research **4**, 273-9.

WENDER M. et HIEROWSKI M. (1964). Enzymatic mechanism of the protein biosynthesis in the developing nervous system.
ibid. **4**, 272-80.

WESSELLS N.K. (1964). Acquisition of actinomycin D insensitivity during differenciation of pancreas exocrine cells.
Developmental Biol. **9**, (1), 92-114.

WHEELER G.P. et BENNET L.L. (1962). Studies related to the mode of action of actinomycin D.
Biochem. Pharm. **11**, 353-70.

WILDE C.E. Jr. (1955). The role of phenylalanine in the differenciation of neural-crest cells.
Ann. N.Y. Acad. Sc. **60**, 1015.

WILLIAMS E. et SCOTT J.P. (1952). The development of social behavior patterns in the mouse in relation to natural periods.
Behaviour **6**, 35-64.

WIMSATT W.A. (1962). Some aspects of the comparative anatomy of the mammalian placenta.
Amer. J. Obstetrics Gynecol. **84**, (11 p 2) 1568-94.

WOLFF E. (1960). Fetal hormones and morphogenesis in Ist International Conference on Congenital Malformations. Londres.
Lippincott Publish. pp. 195-200.

WOODFORD V.R. et BARTHWAL J.P. (1964). The effect of dietary deficiences of tryptophan and niacin on catecholamines production in the rat.
Can. J. Biochem. **42**, (6), 889-96.

WU C. (1964). Glutamine synthetase in the developing rat.
Archiv. Biochem. Biophys. **106**, (1-3), 394-400.

YOUNG R.D. (1964). Drug administration to neo-natal rats : effets on later emotionality and learning.
Science **143**, (3610), 1055-7.

ZAPRUDSKAYA D.S. (1963).
Biull. Eksptl. Biol. Med. **56**, (9), 54-6.

UNIVERSITÉ DE PARIS
FACULTÉ DES SCIENCES
DE PARIS

PROFESSEURS :

Le Doyen : M. ZAMANSKY

PRENANT	T	Anatomie et histologie comparée
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST	T	Chimie organique
WYART	T	Minéralogie et cristallographie
TEISSIER	T	Zoologie
AUGER	T	Physique quantique et relativité
MONNIER	T	Physiologie générale
PIVETEAU	T	Paléontologie
ROCARD	T	Physique E.N.S.
CARTAN	T	Mathématiques E.N.S.
LAFFITTE	T	Chimie générale
N...	T	Géométrie supérieure
COULOMB	T	Physique du globe
Mlle COUSIN	T	Biologie animale SPCN
CHRETIEN	T	Chimie minérale
BOCQUET	T	Zoologie
KASTLER	T	Physique E.N.S.
EPHRUSSI	T	Génétique
GAUTHERET	T	Biologie végétale CPEM
LUCAS R.		Recherches physiques
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire
MORAND	T	Physique enseignement
SOLEILLET	T	Physique CPEM
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides
DRACH	T	Zoologie
QUENE	T	Météorologie et dynamique de l'atmosphère
GALLIEN	T	Embryologie
EICHHORN	T	Botanique
DE CUGNAC	T	Biologie végétale SPCN
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie physique
THELLIER	T	Physique du globe
PONCIN	T	Mécanique générale
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres
QUELET	T	Chimie organique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire
CUVILLIER	T	Micropaléontologie
JUNG	T	Géologie
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique
WIEMANN	T	Chimie organique et structurale
VASSY	T	Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES	T	Théorie physique
AMIEL	T	Chimie générale
HOCART	T	Minéralogie et cristallographie
J.P. MATHIEU	T	Physique optique
COUTEAUX	T	Cytologie
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et topologie
FELDMANN	T	Biologie végétale marine
JOST	T	Physiologie comparée
FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathématiques
SCHWARTZ	T	Calcul différentiel et intégral
CHOUARD	T	Physiologie végétale
MALAVARD	T	Aviation (technique aéronautique)
BRELOT	T	Analyse supérieure
NORMANT	T	Synthèse organique
BENARD	T	Chimie appliquée
DUGUE	T	Statistique mathématique
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
ULRICH	T	Physiologie végétale appliquée
KIRRMANN	T	Théories chimiques
CHADEFAUD	T	Botanique
Mlle LE BRETON	T	Physiologie de la nutrition
LELONG	T	Application de l'analyse à la géométrie
DEVILLERS	T	Anatomie et histologie comparées
EHRESMANN	T	Topologie algébrique
FRANÇON	T	Physique SPCN
GLANGEAUD	T	Géographie physique, géologie dynamique
DODEMENT	T	Mathématiques MGP
PISOT	T	Technique mathématique de la physique
ROCH	T	Géologie
SCHATZMANN	T	Astrophysique
TERMIER	T	Géologie générale
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
LENNUIER	T	Physiques M.G.P.
ROUTHIER	T	Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T	Physique théorique
DIXMIER	T	Mathématiques M.P.C.
SOUCHAY	T	Chimie générale
AIGRAIN	T	Electrotechnique
BRUSSET	T	Chimie systématique
LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies
Mme CHAIX	T	Chimie biologique
Mme HUREL PY	T	Biologie végétale CPEM
PANNETIER	T	Chimie générale I
BRUN	T	Mécaniques des fluides I
Mme DUBREIL	T	Mathématiques (Agrégation)
Mme LELONG	T	Mathématiques II E.N.S.
BELLAIR	T	Géologie SPCN
COTTE	T	Physique électricité
DUBOIS J.E.	T	Chimie organique physique
LAMOTTE	T	Zoologie E.N.S.
OLMER	T	Energétique générale
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T	Chimie physique
BROSSEL	T	Physique atomique
BUSER	T	Physiologie comparée
CAMUS	T	Physiologie végétale
CURIEN	T	Minéralogie et cristallographie
POSSOMPES	T	Zoologie
PULLMANN	T	Chimie quantique
TEILLAC	T	Physique nucléaire et radio-activité
VILLE	T	Econométrie
WILLEMART	T	Chimie CPEM
FREYMANN	T	Recherches physiques
ROLLET	T	Chimie minérale
Mlle JOSIEN	T	Chimie SPCN
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides

LUCAS G.	T	Géologie
ALLARD	T	Chimie physique
BERTHELOT	T	Physique des particules fondamentales
BRICARD	T	Météorologie
Mme ALBEFESSARD	T	Psycho-physiologie
M. JULIA	T	Etude des molécules naturelles complexes
MAGAT	T	Physico-chimie des rayonnements
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie
MONOD	T	Chimie du métabolisme
DE POSSEL	T	Analyse numérique
CHARLOT	T	Chimie analytique
CHATELET	T	Chimie CPEM
MATTLER	T	Physique SPCN
BOUISSIERES	T	Radiochimie
Mme COUTURE	T	Thermodynamique et mécanique physique
FRANC	T	Biologie animale CPEM
SCHNELL	T	Botanique tropicale
STOLKOWSKI	T	Physiologie générale
ACHER	T	Chimie biologique
BAUDOIN	T	Biologie animale CPEM
BEAUMONT		Biologie animale SPCN
BLAMONT		Géophysique ionosphère
BOUREAU	T	Botanique
CURIE D.		Physique MGP
DURAND DELGA	T	Géologie
HELLER	T	Physiologie végétale
TORTRAT	T	Calcul des probabilités
CAILLEUX	T	Géologie SPCN
MAGNAN		Physique électricité
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire
Mlle FOURCROY		Biologie végétale SPCN
Mme CHOQUET BRUHAT		Mécanique analytique et mécanique céleste
Mlle VEIL	T	Physiologie générale
LWOFF	T	Microbiologie
SIESTRUNCK	T	Mécanique physique et expériment.
CABANNES	T	Mécanique générale
CAIRE	T	Géographie physique et géologie dynamique
COMOLET		Mécanique des fluides
DELLOUE	T	Physique de l'exosphère
HOUILLON		Biologie animale CPEM
OLIVIER		Anthropologie
SAMUEL	T	Mathématiques (ENS jeunes filles)
THIRY	T	Mécanique céleste
ABELES	T	Physique SPCN
AMAT	T	Thermodynamique
AUBOIN	T	Géologie
Mme BENOIT-GUEUTAL	T	Physique nucléaire et radio-activité
BOUGIS		Biologie végétale marine Villefranche-sur-Mer
RIGAUDY	T	Chimie SPCN
COLLONGUES		Chimie CPEM
DUBERT		Biochimie
NOZIERES		Physique générale
CADIOT		Chimie organique
IVANOFF		Océanographie physique
FRANÇOIS		Zoologie
TALBOT		Génie chimique
Mme NOUGAREDE		Botanique
BRUHAT	T	Mathématique MPC
FOURNET		Electricité générale
DEHEUVELS	T	Mathématiques propédeutiques
FURON	T	Géologie SPCN
Mme GANS	T	Génétique
GENEVES		Biologie végétale CPEM
HUPE	T	Pétrographie
HOLLANDE	T	Biologie générale
LIONS	T	Analyse numérique
MAITTE	T	Chimie organique
NICOLAS		Géologie appliquée
PANIGEL		Biologie générale
RAVIER	T	Pétrographie
MOREL F.	T	Physiologie comparée
ROSEAU	T	Mécanique théorique des fluides
ROUBINE		Electronique ESE
SILBER	T	Chimie CPEM
UEBERSFELD	T	Electronique
	T	Théories physiques
HERVE	T	Mathématiques
Mme PECKER-WIMEL	T	Astrophysique
BALKANSKI		Physique MPC
LE CORRE	T	Electricité
NATAF	T	Physique nucléaire et radio-activité
ECHALIER		Biologie animale CPEM
BARRAUD	T	Physique CPEM
DARS		Géologie structurale et appliquée
CAMEFORT	T	Botanique (agrégation)
VICHNIEWSKY	T	Mécanique industrielle
SIGWALT	T	Chimie SPCN
BLAQUIERE		Electronique
BARUCH		Physique propédeutique
ARNOUS	T	Physique théorique
SLONIMSKI		Génétique
MALLIAVIN	T	Mathématiques propédeutique
GAUDEMAR		Chimie propédeutique
BROUSSE	T	Mécanique théorique
ROSCH	T	Astronomie
GUY	T	Physique expérimentale
LAZARD		Mathématiques MPC
MOREL P.		Physique MPC
ARSAC		Programmation
LEFEBVRE		Chimie MPC
BOK		Physique propédeutique
CHAPEVILLE		Biochimie
BENOIT		Physique CPEM
RIO		Chimie CPEM
JAUZEIN		Géologie ENS
PREVOST G.		Biologie végétale CPEM
FAVARD P.		Biologie animale CPEM
Mme CHARNIAUX-COTTON		Evolution des êtres organisés
Mlle FICINI		Chimie CPEM
LEQUEUX		Astronomie
COHEN TANNOUDJI		Physique atomique
TAVERNIER		Physique CPEM
DURAND Michel		Biologie animale SPCN
PASCAUD		Physiologie
Mme PETIT		Biologie animale CPEM
CAGNAC		Physique agrégation
FALK-VAIRANT		Physique nucléaire
KRASNER	T	Mathématiques
BENZECRI	T	Statistiques
VINH MAU		Physique MGP
DUQUESNES		Physique CPEM
SCHUTZENBERGER		Programmation
TREMILLON		Chimie MPC
FAYARD		Chimie MPC
BUVET		Chimie CPEM
AUTHIER		Physique MPC
PICINBONO	T	Physique CPEM
BONNEFILLE		Electrotechnique
Mme PUISEUX DAO		Biologie végétale

Le Secretaire General :
R. POULLAIN

UNIVERSITÉ DE PARIS
FACULTÉ DES SCIENCES
D'ORSAY

PROFESSEURS :

MANGENOT G.	T	Biologie végétale
JACQUINOT P.	T	Optique
GUINIER A.	T	Electricité et physique des solides
GRIVET P.	T	Electronique
BLANC-LAPIERRE A.	T	Accélérateur linéaire
L'HERITIER P.	T	Génétique des virus
LEMEE G.	T	Ecologie végétale
MOYSE A.	T	Physiologie végétale
DODE M.	T	Chimie thermodynamique
DENY J.	T	Mathématiques
RIVIERE A.	T	Géologie générale et sédimentologie
MICHEL A.	T	Chimie minérale
MAY R.	T	Anatomie comparée
DELANGE H.	T	Mathématiques
CHAPELLE J.	T	Physique expérimentale
LACOMBE P.	T	Métallurgie
BENOIT P.	T	Physiologie générale
GUINOCHET J.	T	Biologie végétale SPCN
NERON A.	T	Mathématiques
NOZERAN R.	T	Botanique approfondie
CASTAING R.	T	Thermodynamique
ELLENBERGER F.	T	Géologie structurale
LEDERER E.	T	Chimie biologique
RIZET J.	T	Génétique
LENDER T.	T	Biologie animale SPCN
POITOU G.	T	Mathématiques
FREON P.	T	Chimie organique
TONNELAT	T	Biologie physico-chimique
BRUNN Jan	T	Géologie historique
JEAN M.	T	Physique nucléaire
BERGERARD J.	T	Zoologie
ROGER J.	T	Paléontologie
LEFORT M.	T	Chimie nucléaire
LAGARRIGUE A.	T	Physique des hautes énergies
JULLIEN J.	T	Chimie structurale organique
ARNULF A.	T	Optique
ROUAULT M.	T	Diffraction électronique
MARECHAL A.	T	Optique théorique et appliquée
MAZET R.	T	Mécanique générale
DAVID Serge	T	Chimie agrégation
GUERIN H.	T	Chimie des gaz et des combustibles
LESIEUR L.	T	Mathématiques MPC et algèbre
KOURGANOFF	T	Astronomie
ARNOULT P.	T	Physique électronique
KAHANE J.-P.	T	Mathématiques
BROCHARD J.	T	Physique propédeutique
Mme ROIZEN	T	Physique CPEM
BERTEIN F.	T	Electronique
MALGRANGE B.	T	Mathématiques
CORABOEUF E.	T	Physiologie animale
FRIEDEL J.	T	Physique des solides
CHEVAUGEON J.	T	Cryptogamie
MEYER P.	T	Physique théorique et atomique
LEHMANN P.	T	Accélérateur linéaire
CHABRAL R.	T	Physique propédeutique
DELCROIX J.-M.	T	Physique des plasmas
CERF J.	T	Mathématiques
D'ESPAGNAT B.	T	Physique théorique
SCHAEFFER P.	T	Microbiologie
DE GENNES P.	T	Physique des solides
Mme MARTY N.		Physique propédeutique
GOURDIN M.		Physique théorique
PEREZ-Y-JORRA		Physique propédeutique
GORENFLOT E.		Biologie végétale SPCN
RIOU M.		Physique nucléaire
BROUSSE R.		Géologie SPCN
LIORET C.		Physiologie végétale
CLAUSER H.		Chimie biologique
JANCOVICI B.		Physique atomique
LURCAT J.		Physique propédeutique
		Entomologie
LAVOREL J.		Biophysique
PERIO P.		Physique propédeutique
FETIZON M.		Stéréochimie
CHEMLA M.		Chimie des isotopes
MAZIERES C.		Chimie SPCN
VILKAS M.		Chimie CPEM
BLANDIN A.		Physique des solides
BRUN G.		Génétique
MERCOUROFF		Physique agrégation
ANDRE J.		Microscopie électronique
CHEVALLIER F.		Physiologie animale
Mlle MARCOU		Biologie cellulaire CPEM
BOURDU R.		Physiologie végétale
BERKALOFF A.		Biologie animale CPEM
Mlle LEFORT M.		Biologie cellulaire CPEM
Mme LAMBERT		Physique CPEM
BIZOT J.-C.		Physique MPC
GUIRAUD J.-P.		Mécanique
LABOUESSE B.		Chimie SPCN